

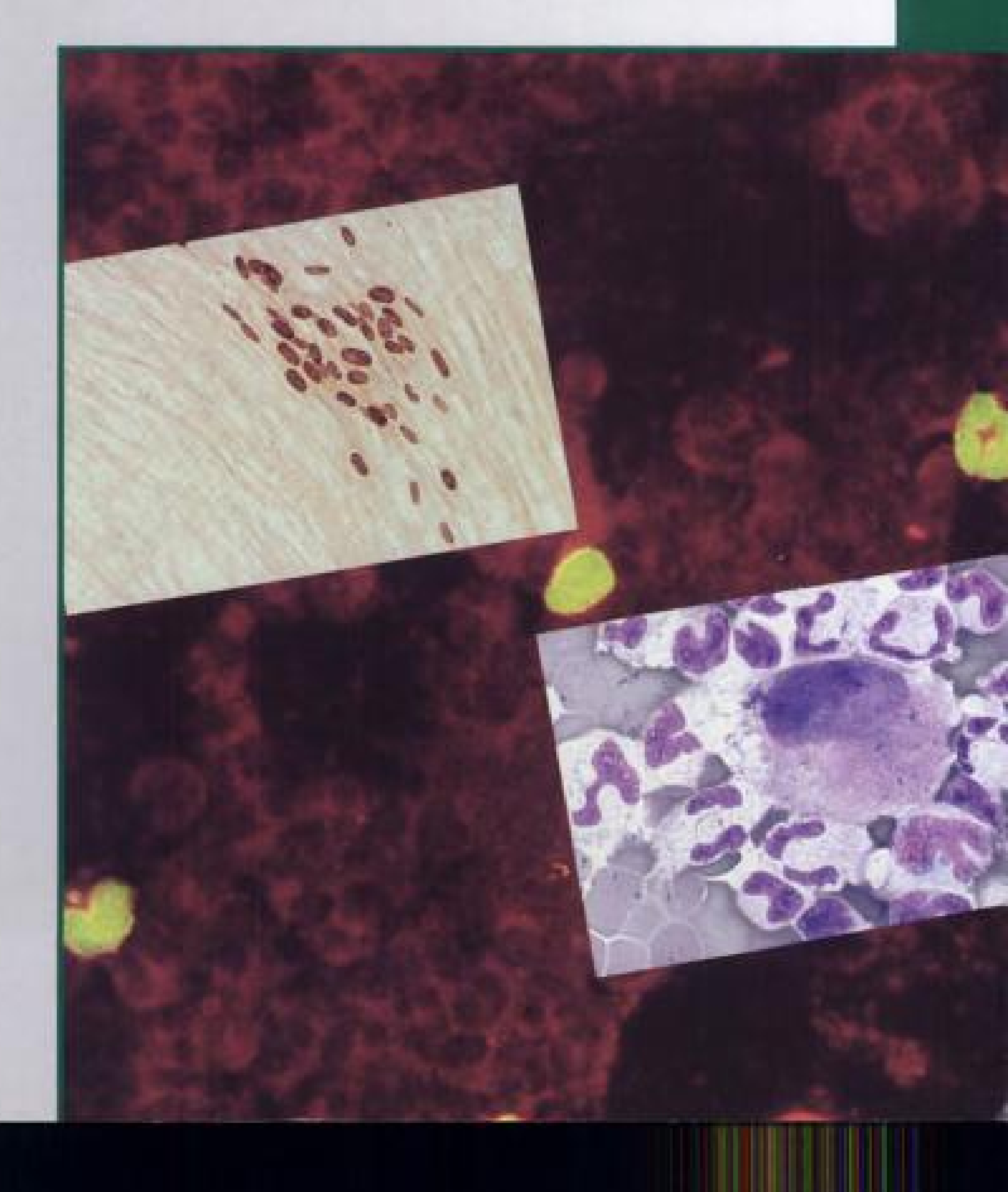
Collection dirigée par

Jean-Claude Nicolas

Cytomégalovirus

Coordinateur

Marie-Christine Mazeron







Méningites bactériennes communautaires
Coordinateur Édouard Bingen
ISBN : 2-84299-268-7

Hépatites virales entérotransmissibles
Coordinateur Élisabeth Nicand
ISBN : 2-84299-323-3

Infections virales et toxoplasmose maternofœtales
Coordinateur Liliane Grangeot-Keros, François Audibert
ISBN : 2-84299-265-2

Infections virales respiratoires – tome 1
Grippe et infections virales des voies aériennes supérieures
Coordinateur François Freymuth
ISBN : 2-84299-266-0

Infections virales respiratoires – tome 2
Bronchopneumopathies virales
Coordinateur François Freymuth
ISBN : 2-84299-338-1

Mycoplasmes et chlamydiae
Coordinateur Christiane Bébéar
ISBN : 2-84299-337-3

Cytomégalovirus
Coordinateur Marie-Christine Mazeron
ISBN : 2-84299-267-9

Réalisation éditoriale : Nathalie Morellato
Maquette : Philippe Brunet
Illustration de couverture : Marie-Christine Mazeron

Photocomposition : Ex Publications, 28000 Chartres.
Imprimé en France par l'imprimerie Louis-Jean, 05003 Gap.
Dépôt légal : 590 - octobre 2002
ISBN : 2-84299-267-9
ISSN : 1631-3623

Cytomégalovirus

Coordinateur
Marie-Christine Mazeron



Collection dirigée par
Jean-Claude Nicolas

Paris, Amsterdam, New York, Oxford, Shannon, Tokyo
23, rue Linois, 75724 Paris Cedex 15
http://www.elsevier.fr



Auteurs

Sophie Alain
Service de bactériologie-virologie-hygiène, CHU Dupuytren, 2, avenue Martin-Luther-King, 87042 Limoges cedex
sophie.alain@unilim.fr

Ronald Colimon
Service de bactériologie-virologie, hôpital Ponchaillou, 35033 Rennes cedex
Ronald.Colimon@chu-rennes.fr

Jean-Luc Davignon
Inserm U 395, BP 3028, 31024 Toulouse cedex
Jean-Luc.Davignon@toulouse.inserm.fr

Agnès Devergie
Service de greffe de moelle osseuse, hôpital Saint-Louis, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris
agnes.devergie@sls.ap-hop-paris.fr

Alexandra Ducancelle
Service de bactériologie-virologie, hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise-Paré, 75475 Paris cedex 10
alexandra.ducancelle@lrb.ap-hop-paris.fr

Anne-Marie Fillet
Service de virologie, Cervi, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13
anne-marie.fillet@psl.ap-hop-paris.fr

Laurence Gérard
Service d'immuno-hématologie, hôpital Saint-Louis, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris
laurence.gerard@sls.ap-hop-paris.fr

Berthe-Marie Imbert
Laboratoire de virologie, CHU, institut de biologie, 9 quai Moncousu, 44035 Nantes cedex 01
bmimbert@sante.univ-nantes.fr

Christophe Legendre
Service de néphrologie, hôpital Saint-Louis, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris
christophe.legendre@sls.ap-hop-paris.fr

Marie-Christine Mazeron
Service de bactériologie-virologie, hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise-Paré, 75475 Paris cedex 10
marie-christine.mazeron@lrb.ap-hop-paris.fr

Marie-Caroline Meyohas
Service des maladies infectieuses et tropicales, hôpital Saint-Antoine, 184, rue du Faubourg Saint-Antoine, 75012 Paris
marie-caroline.meyohas@sat.ap-hop-paris.fr

Noël Milpied
Service d'hématologie clinique, CHU de Nantes, Hôtel-Dieu, place Alexis-Ricordeau, BP 1005, 44093 Nantes cedex 01
nmilpied@chu-nantes.fr

Sophie Minjolle
Service de bactériologie-virologie, hôpital Ponchaillou, 35033 Rennes cedex
Sophie.minjolle@chu-rennes.fr

Sylvie Rogez
Service de bactériologie-virologie-hygiène, CHU Dupuytren, 2, avenue Martin-Luther-King, 87042 Limoges cedex
sylvie.rogez@unilim.fr

Flore Rozenberg
Service de bactériologie-virologie, hôpital Saint-Vincent-de-Paul, 74, avenue Denfert-Rochereau, 75014 Paris
flore.rozenberg@svp.ap-hop-paris.fr

Dominique Salmon-Céron
Service de médecine interne A, CHU Cochin, AP-HP, université Paris V, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris
dominique.salmon@cch.ap-hop-paris.fr

Michel Segondy
Laboratoire de virologie, hôpital Saint-Eloi, 34059 Montpellier cedex
m-segondy@chu-montpellier.fr

Sommaire

Avant-propos

Pourquoi consacrer en 2002 un ouvrage au cytomégalovirus (CMV) ? L'infection par le CMV est en fait loin d'avoir livré tous ses secrets et son traitement continue de soulever de grandes difficultés. L'épidémiologie des infections s'est significativement modifiée ces dernières années et des progrès considérables ont été accomplis dans le diagnostic et la prise en charge des malades, comme dans la connaissance de la pathogenèse des infections. L'ouvrage que nous présentons a pour objectif de faire le point des connaissances et des recommandations actuelles sur les infections à CMV. Des spécialistes reconnus, virologistes, cliniciens, immunologistes, ont accepté dans le domaine de leurs compétences de faire la synthèse des dernières avancées, sans oublier d'y intégrer leur expérience personnelle.

Le CMV garde de toute évidence une place importante en clinique. Il est l'agent étiologique le plus souvent responsable des infections virales congénitales et périnatales. À ce propos, signalons que la classique notion que seule la primo-infection maternelle peut être à l'origine de symptômes sévères chez le nouveau-né mérite d'être nuancée depuis que des cas de réinfection maternelle conduisant à de tels symptômes ont été rapportés.

Chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les traitements antirétroviraux hautement actifs permettent depuis 1996 une reconstitution au moins partielle de l'immunité, réduisant ainsi le taux d'incidence de la maladie à CMV de 80 %. Cependant, la prise en charge des malades dans ce contexte reste encore très difficile.

Chez les receveurs d'allogreffe de moelle ou d'organe, des stratégies de prévention sont en plein développement. Elles diminuent l'incidence et la gravité des infections et leur mise en œuvre s'appuie sur la détection précoce des marqueurs de la réplication virale.

Des techniques performantes de mesure de la charge virale, comme la PCR en temps réel, ont été récemment mises au point. Outre leur intérêt diagnostique, elles ont permis d'évaluer la dynamique de la réplication virale in vivo. Les limites de ces techniques doivent cependant être connues pour mieux interpréter leurs résultats.

Les indications des traitements antiviraux s'affinent, mais la recherche de nouvelles molécules marque le pas. Des problèmes restent en suspens comme le rôle débattu du CMV dans la pathogenèse de l'athérosclérose et les stratégies à développer pour la mise au point d'un vaccin.

Les auteurs de cet ouvrage se sont donc donné pour objectif de faire le point sur tout ce qui peut être utile aux malades infectés par le CMV. C'est ainsi que le lecteur trouvera une vaste mise au point sur le diagnostic clinique et biologique de l'infection ainsi que sur la biologie du virus et la réponse immune, puis sur le traitement de la maladie à CMV et les méthodes de prévention de la transmission maternofœtale et de l'infection à CMV du receveur de greffe.

Marie-Christine Mazeron

Biologie du cytomégalovirus

Ronald Colimon, Sophie Minjolle

- Classification
- Structure du virion
- Réplication du virus



Le cytomégalovirus humain (CMV) est un virus spécifique de l'homme. Il a été regroupé avec les autres herpèsvirus sur la base de caractéristiques morphologiques dans la famille des Herpesviridae. Certaines notions de la biologie du virus sont importantes pour comprendre la physiopathologie de ces infections et le choix des cibles moléculaires spécifiques du traitement antiviral.

1. Classification

Le genre *Cytomegalovirus*, de même que les herpèsvirus humains 6 et 7 (HHV-6, HHV-7), est un taxon appartenant à la sous-famille des Betaherpesvirinae, famille des Herpesviridae *(tableau 1)*. L'espèce type est le cytomégalovirus humain ou herpèsvirus humain 5. Les cytomégalovirus sont des virus infectant les vertébrés.

2. Structure du virion

Les caractéristiques de la particule virale sont communes aux autres membres de la famille des Herpesviridae. Il s'agit d'un virus enveloppé de 200 nm de diamètre en moyenne, avec une capside de 110 nm de diamètre de symétrie icosaédrique ; un espace appelé tégument sépare la capside de l'enveloppe. Le génome de ces virus est constitué par un ADN bicaténaire linéaire. Les virions pléiomorphes paraissent sphéroïdes. La particule du CMV contient plus de 35 à 40 protéines structurales *(figure 1)*. Il existe dans le cas du CMV des particules incomplètes enveloppées appelées « corps denses » composés de protéines tégumentaires.

Tableau 1. Classification des herpèsvirus humains pathogènes chez l'homme.

Dénomination					
Officielle	Usuelle	Sous-famille	Genre	Taille du génome (kb)	GC%
Herpèsvirus humain 1	Herpès simplex type 1 (HSV1)	Alpha	Simplexvirus	152	67
Herpèsvirus humain 2	Herpès simplex type 2 (HSV2)	Alpha	Simplexvirus	152	69
Herpèsvirus humain 3	Virus varicelle-zona (VZV)	Alpha	Varicellovirus	125	46
Herpèsvirus humain 4	Virus Epstein-Barr (EBV)	Gamma	Lymphocryptovirus	172	59
Herpèsvirus humain 5	Cytomégalovirus (CMV)	Bêta	Cytomégalovirus	229	57
Herpèsvirus humain 6	HHV-6	Bêta	Roséolovirus	160	43
Herpèsvirus humain 7	HHV-7	Bêta	–	145	42
Herpèsvirus humain 8	Herpèsvirus lié au Kaposi (KSHV)	Gamma	Rhadinovirus	170	55

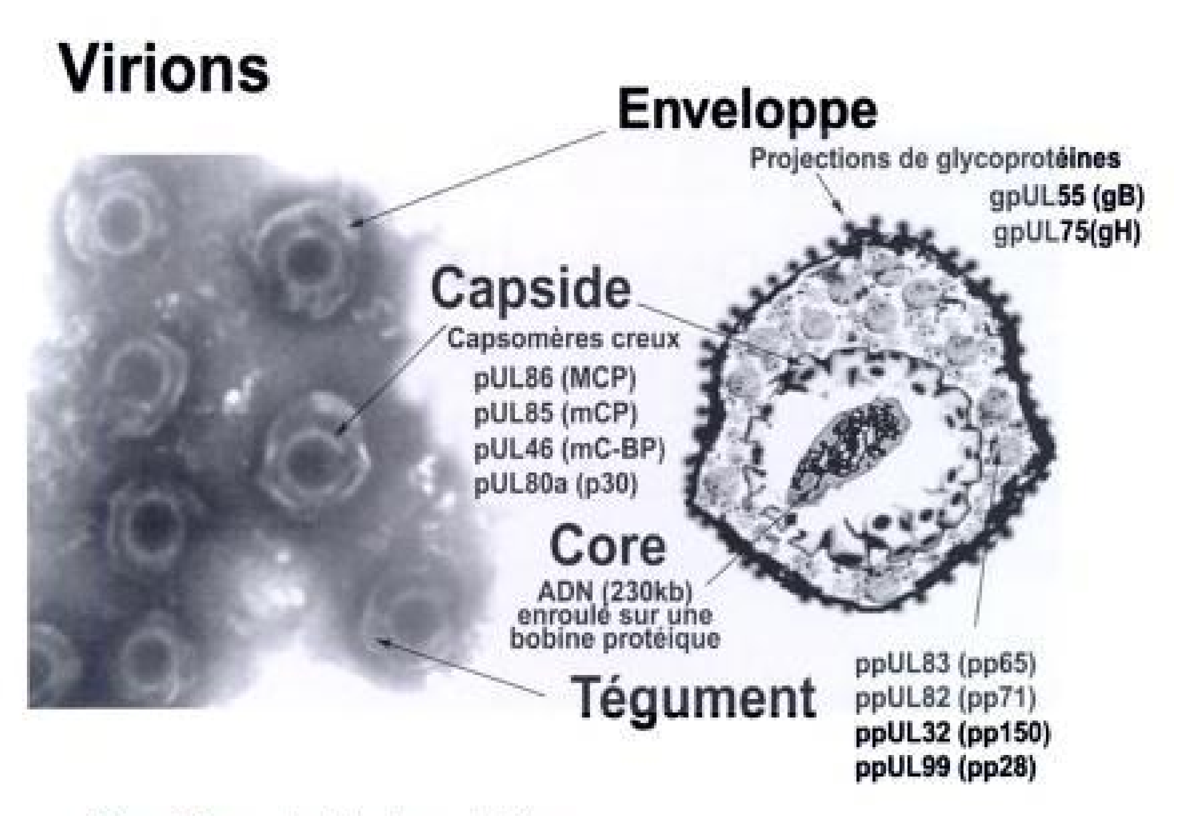


Figure 1. Structure des virions du cytomégalovirus.
Photo de microscopie électronique en coloration négative et schéma d'une particule virale.

2.1. Génome

Le génome a une taille de 230 kilobases (kb), soit une masse moléculaire de 155.10^6 ; c'est le plus grand des génomes d'herpèsvirus connus. Il a été complètement séquencé et comporte plus de 200 cadres de lecture ouverts pouvant coder des protéines. Sa composition en G+C est de 57 %. Certaines séquences génomiques sont répétées. L'ADN viral est séparé en deux segments de séquences uniques (UL : *unique long*, 82 % de la molécule et US : *unique short*, 18 % de la molécule) par une zone de jonction (IRL-IRS pour *internal repeat long* et *internal repeat short*) constituée des séquences inversées d'ADN des deux extrémités de la molécule (TRL et TRS pour *terminal repeat long* et *terminal repeat short*). De plus, aux extrémités des segments UL et US, se trouvent des répétitions directes appelées « *a* ». L'orientation des deux segments UL et US l'une par rapport à l'autre entraîne l'apparition de quatre formes isomères de l'ADN génomique. Par convention, les cadres de lecture ouverts des gènes sont numérotés UL ou US, suivis d'un numéro selon leur localisation génomique. La protéine est désignée par le nom de son cadre de lecture ouvert précédé de la lettre p pour protéine avec s'il y a lieu l'indication de la nature de la protéine : pp pour phosphoprotéine, gp pour glycoprotéine.

L'organisation des séquences répétées des Herpesviridae a permis de les classer en six groupes génomiques (A à F). Le génome du CMV appartient au groupe E *(figure 2)*.

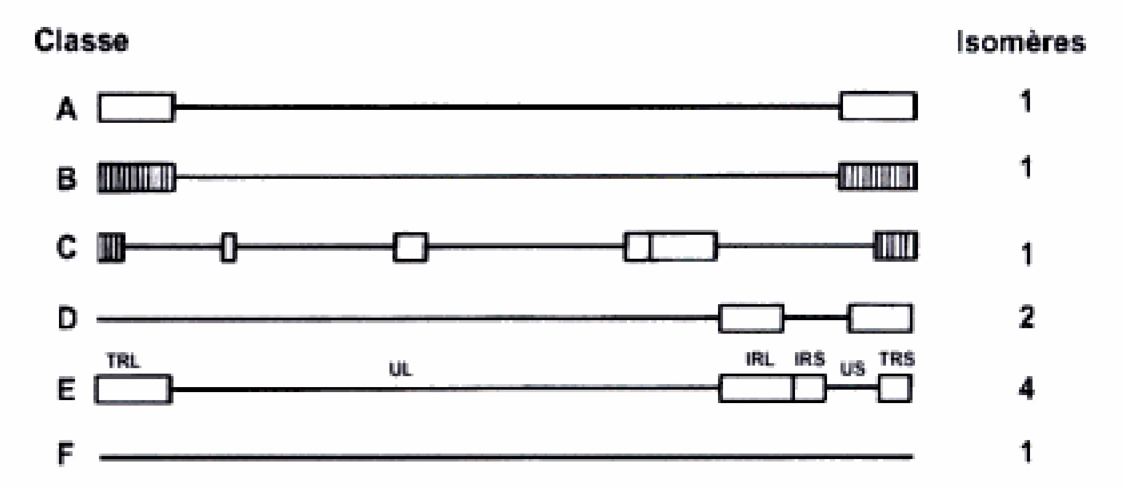


Figure 2. Classification des génomes de la famille des Herpesviridae.

L'homologie de séquence existant entre les ADN des différentes souches virales est supérieure à 80 %. Les zones les plus hétérogènes sont les répétitions directes « *a* » et la zone de jonction de UL et de TRL. La souche Toledo possède, dans la région UL, une insertion de 13 kb comportant des cadres de lectures supplémentaires par rapport au prototype AD-169 ; cette observation a pu être vérifiée sur le génome d'autres isolats de CMV.

2.2. Core

Le core consiste en une bobine protéique (structure dite toroïdale) sur laquelle l'ADN est enroulé. De la spermine et de la spermidine sont associées à la molécule d'ADN selon le ratio 2:1. Ces polyamines permettraient de neutraliser la charge négative de l'ADN au cours de l'empaquetage.

2.3. Nucléocapside

La nucléocapside est composée de 162 capsomères qui se présentent comme des tubes de section hexagonale, creux sur la moitié de leur longueur. Elle comporte deux protéines (p) principales : la protéine majeure de capside (MCP : *major capsid protein*), ou pUL86 (1 370 acides aminés–150 kDa) (90 % des protéines de la capside), et la protéine mineure de capside (mCP : *minor capsid protein*) ou pUL85 (290 acides aminés–35 kDa). La mCP joue probablement un rôle dans l'ancrage de l'ADN. La mC-BP ou pUL46 est une protéine de capside mineure très basique liée à mCP. D'autres protéines, la pUL80a (p30), la pUL48/49 (SCP : *smallest capsid protein*), interviennent dans l'assemblage de la capside.

2.4. Tégument

Le tégument ou matrice est constitué d'une substance d'allure globulaire ou amorphe de quantité variable d'une particule à l'autre et répartie de façon asymétrique.

Il contient sept protéines principales, pour la plupart phosphorylées. La phosphoprotéine UL83 (ppUL83) ou « pp65 » est la protéine la plus abondante du tégument et du virion (95 % de la masse du tégument), elle est accompagnée de la pp71 (ppUL82). La ppUL32 (150 kDa) ou pp150 représente 20 % des protéines totales du virion. Enfin, deux autres phosphoprotéines minoritaires ont été identifiées : la pp28 (ppUL99), localisée près de la surface capsidique, et la pp130, impliquée dans la maturation virale. De plus, des protéines cellulaires sont incorporées dans le tégument : il s'agit d'enzymes (ADN polymérase, phosphatases, DNase), mais également de protéines intervenant dans les interactions membranaires (anexine II, CD55, CD56). La présence de messagers viraux dans le tégument a été rapportée par certains auteurs, mais reste à être précisée.

2.5. Enveloppe virale

L'enveloppe virale dérive de la membrane nucléaire, cytoplasmique et des membranes endosomales de la cellule infectée. Sa surface paraît rugueuse, elle porte de petites projections régulièrement réparties, constituées de glycoprotéines (gp) codées par le virus. Trois glycocomplexes (gc) prédominent : la principale est la gcI constituée essentiellement de la gB (55 kDa) provenant du clivage de la gpUL55 (150 kDa) ; le gcII est un composant abondant de l'enveloppe virale dont fait partie la gpUL100 (gM) qui comprend plusieurs domaines hydrophobes et qui jouerait le rôle d'IMP (*integral membran protein*) ; enfin, le gcIII dont le composant majeur est la gH ou gpUL75 (86 kDa), les autres composants en sont la gL (gpUL115) et la gO (gpUL74). Des glycoprotéines mineures ont été décrites telles que gpUL4 (48 kDa), hautement glycosylée. Enfin, des protéines d'enveloppe aux propriétés fonctionnelles particulières ont été recensées : la gpUS27 et la gpUS28, possédant les caractéristiques de récepteurs couplés à la protéine G, sont des récepteurs de chimiokine de type C-C, la gpUL6-11 intervient dans la régulation des glycoprotéines du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

3. Réplication du virus

Dans l'organisme, de très nombreuses cellules permettent la multiplication du CMV. C'est le cas des cellules endothéliales, des macrophages, mais également de cellules parenchymateuses (hépatocytes, neurones, myocytes).
In vitro, la permissivité est restreinte aux cellules humaines telles que les fibroblastes primaires différenciés obtenus de la peau ou des poumons. Les souches cellulaires les plus couramment utilisées pour l'isolement viral sont les fibroblastes embryonnaires de poumon (exemple : cellules MRC-5). Les lignées cellulaires indifférenciées, transformées ou aneuploïdes, d'origine humaine, ne sont pas en général permissives (cellules HeLa, KB) ; une lignée d'astrocytome humain (U373) permet une réplication complète du CMV.
Les lignées cellulaires d'origine animale, à l'exception de certaines cellules de primate (fibroblastes primaires de chimpanzé), ne permettent pas la multiplication du CMV humain.

3.1. Cycle complet

Ce cycle est lent in vitro par rapport aux virus herpès simplex. Il faut 48 à 72 heures pour détecter des virions infectieux dans le surnageant des cellules infectées.

3.1.1. Fixation du virus à la membrane cellulaire et activation cellulaire

La fixation du virus à la surface cellulaire est rapide, elle peut se faire à 4 °C, aussi bien sur les cellules permissives que sur les non permissives. Les récepteurs membranaires sont présents sur un grand nombre de types de cellules. Plusieurs modes de fixation ont été décrits.

La gB du virion se lie à son récepteur l'annexine II (34 kDa), protéine de la famille des lipocortines. La gB se fixe également sur les protéoglycanes héparine-sulfate. Le gcII se lie à l'héparine. La gH se lie à une glycoprotéine phosphorylée de 92,5 kDa.

Le virus peut se fixer à la membrane cellulaire par l'intermédiaire de la β_2-microglobuline. La protéine gpUL18 du CMV, homologue de la chaîne légère de la molécule HLA de classe I, est capable de fixer la β_2-microglobuline qui forme un pont entre le virus et les molécules HLA-I de la membrane cellulaire.

La fixation du virus aux récepteurs cellulaires permet l'activation de la fonction kinase de ces récepteurs et aboutit à la stimulation de la transcription de gènes cellulaires. On constate une augmentation de l'influx de $Ca2^+$ et de l'activité de la phospholipase C. L'hydrolyse par cette phospholipase du phosphatidylinositol diphosphate entraîne une libération d'inositol triphosphate et de diacylglycérol, responsables de l'augmentation du calcium intracellulaire et du taux d'AMP cyclique et de GMP. Ces modifications cytoplasmiques déclenchent l'activation de la protéine kinase C. La cascade de phosphorylation induite par la protéine kinase C va permettre le passage dans le noyau de facteurs de transcription inactifs jusque-là dans le cytoplasme.

3.1.2. Pénétration du virus

La pénétration virale s'effectue dans les cinq minutes qui suivent l'exposition de la cellule au virus, et elle est indépendante du pH (absence d'endocytose). Cependant, la pénétration par endocytose est possible in vivo et in vitro.

La liaison de la gpUL75 (gH) à son récepteur entraînerait la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. La protéine de surface aminopeptidase N (CD13) participerait également à la pénétration du CMV.

Les nucléocapsides liées à des protéines tégumentaires, libres dans le cytoplasme, se dirigent vers les pores nucléaires. La ppUL83 (pp65) du tégument s'accumule ainsi de façon active dans le noyau de la cellule avant toute synthèse de protéine d'origine virale.

3.1.3. Synthèse des virions

Les gènes viraux vont être exprimés en trois phases : de 0 à la 2e heure, la phase α ou très précoce (TP ou IE : *immediate early*), de la 2e à la 20e heure, la phase β ou précoce (P ou E : *early*) et au-delà de la 20e heure, entrecoupée par la synthèse de l'ADN viral, la phase γ ou tardive (T ou L : *late*). L'ARN polymérase II de la cellule va transcrire les gènes viraux qui possèdent tous des promoteurs reconnus par cette enzyme *(figure 3)*.

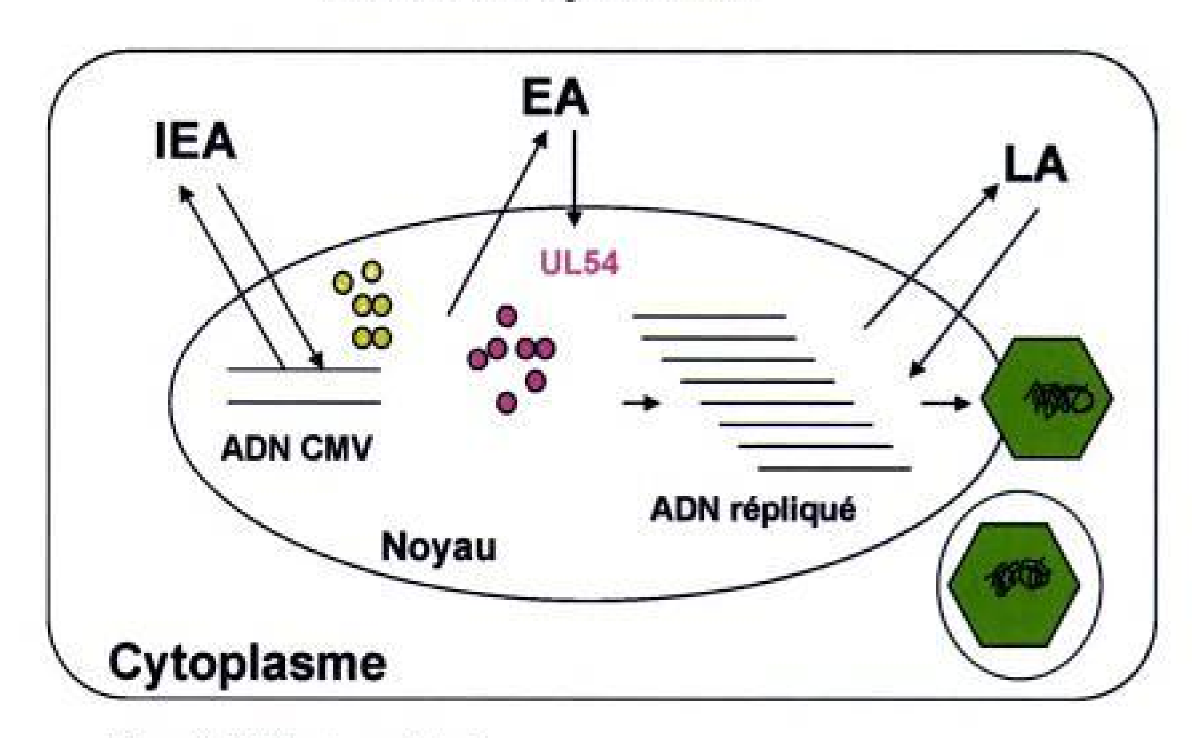


Figure 3. Réplication du cytomégalovirus.
IEA : *immediate early antigens* (protéines très précoces) ; EA : *early antigens* (protéines précoces) ; LA : *late antigens* (antigènes tardifs). Les protéines très précoces sont des protéines de régulation qui se localisent dans le noyau de la cellule infectée. La synthèse de l'ADN polymérase UL54, protéine précoce, permet le début de la réplication de l'ADN viral qui marque l'entrée dans la phase tardive.

3.1.3.1. Expression des gènes viraux très précoces, précoces et synthèse de l'ADN viral

3.1.3.1.1. Phase très précoce (α) et facteurs de régulation de la synthèse protéique

La transcription des gènes très précoces ne requiert pas de synthèse protéique de novo, et peut donc s'accomplir en présence de cycloheximide. Cinq régions génomiques sont exprimées à cette phase : UL122-123, UL36-38, US3, et enfin TRS1-IRS1, seules protéines IE structurales. La grande majorité des transcrits α provient du « locus TP majeur », correspondant aux UL122 et UL123. Les transcrits, IE1 et IE2, sont exprimés grâce à un épissage alternatif à partir d'un site d'initiation commun, par combinaison de six hexons, l'exon 1 étant un exon leader non codant. Le schéma d'épissage est présenté dans la *figure 4*. L'expression des gènes IE1 et IE2 est sous le contrôle d'un promoteur-activateur complexe et très puissant appelé MIEP (*major immediate early promoter*). Ce promoteur comporte trois régions, l'activateur (*enhancer*), une « région unique », et une région « modulatrice », toutes comprenant des sites de fixation intervenant dans l'activation ou la différenciation cellulaire : sites pour NF-kB, NF-1, sites GRE (*glucocorticoid responsive element*), SRE (*serum responsive element*), RARE

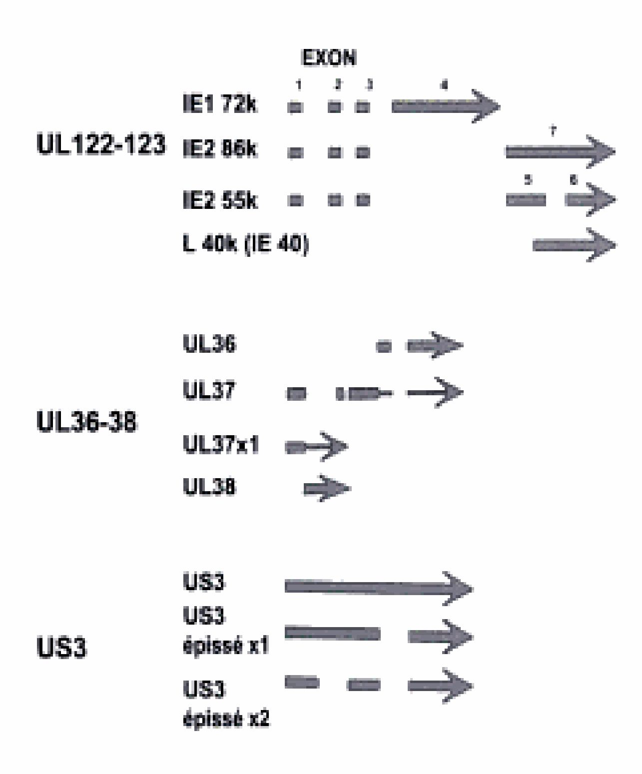


Figure 4. Diagramme des épissages des gènes régulateurs très précoces du cytomégalovirus.
Les parties grisées représentent les différents exons.
Pour UL36-38, les parties fines non traduites indiquent que les messagers sont coterminaux (UL37 avec UL36, UL37 exon 1 avec UL38).

(*retinoic acid responsive element*). Ces multiples sites permettent d'expliquer que la transcription TP est sous la dépendance de l'état d'activation et de différenciation de la cellule, et que la permissivité de la cellule au CMV dépend autant de la disponibilité de facteurs cellulaires que de l'action de facteurs viraux. L'action régulatrice des protéines IE est connue : la protéine IE1 stimule l'expression de IE2, les protéines IE2 stimulent l'expression des gènes précoces (en synergie avec IE1), de certains gènes cellulaires, et peuvent réprimer l'expression de IE1. Au total, les protéines IE peuvent exercer un contrôle positif (IE1 et IE2) ou négatif (IE2 seule) sur leur propre production *(figure 5)* : le passage d'une infection productive à une infection latente (et inversement) dépendrait d'une balance liée au taux de protéine IE2 présente dans la cellule et à l'action associée de facteurs cellulaires capables de stimuler la transcription.

La synthèse des protéines TP est un préalable à celle des protéines précoces et tardives. L'activation d'un très grand nombre de gènes cellulaires dépend également de ces protéines. Ainsi, la transcription des gènes suivants se trouve activée : la fibronectine 1, la vimentine, les facteurs d'élongation 1 et 2, les deux sous-unités de la ferritine, les protéines ribosomales, le collagène, des enzymes telles que le cytochrome oxydase c, l'ATP synthétase.

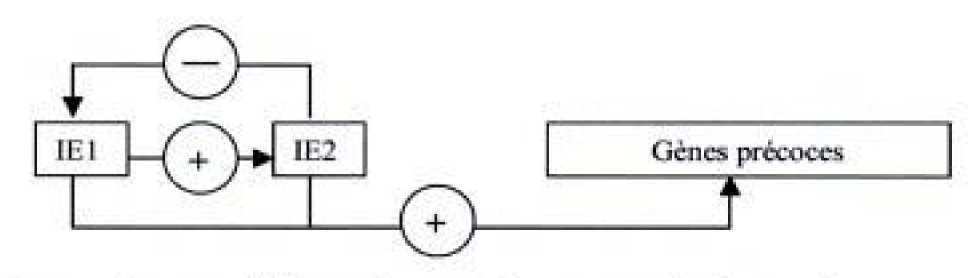


Figure 5. Schéma récapitulatif du contrôle exercé par les protéines IE sur la réplication virale.

3.1.3.1.2. Phase précoce (β) et réplication de l'ADN viral

Certaines glycoprotéines de structure (gpUL55) de même que des glycoprotéines fonctionnellement importantes sont synthétisées à cette période : gpUS27-28 et gpUL33 codant des récepteurs CC-chemokines, gpUS6-11, gpUS10, les gpUL16 et UL20 qui sont des homologues de récepteur des cellules T ou TCR.
Cependant, la plupart des protéines précoces P ou E (*early*) correspondent aux enzymes de la réplication virale. L'ADN polymérase-UL54 (140 kDa) a été la première identifiée. Elle possède les caractéristiques générales des polymérases des autres herpèsvirus, structure des domaines fonctionnels et sensibilité aux analogues nucléosidiques et analogues des pyrophosphates. La pUL44 (fixation à l'ADN double-brin) est une protéine accessoire indispensable à l'activité polymérasique qui s'associe à l'ADN polymérase pour stabiliser sa fixation au brin d'ADN matriciel. La pUL57 se fixe sur l'ADN simple-brin et participe au processus enzymatique. Le complexe hélicase-primase intervenant sur la fourche de réplication est composée de trois protéines précoces (pUL105, 70 et 102). Outre les protéines de réplication proprement dites, il faut signaler la synthèse d'enzymes intervenant dans le métabolisme des nucléosides et de réparation de l'ADN : la grande sous-unité de la ribonucléotide réductase, la déoxyuridine triphosphatase, la déoxyribonucléase et l'uracil-ADN glycosylase. La protéine-kinase UL97, qui intervient dans la phosphorylation du ganciclovir, s'exprime également à cette phase. La ppUL97 joue un rôle important dans la synthèse de l'ADN viral et dans la maturation de la particule virale, lors de l'empaquetage de l'ADN.

In vitro, la réplication de l'ADN viral peut être détectée à forte multiplicité d'infection, dès la 12e heure. La synthèse est maximale entre la 72e et la 96e heure. Elle débute à l'origine de la réplication, oriLyt, localisée dans la région située entre les nucléotides 92 200 et 93 700. Elle est très riche en séquences répétées et en sites de fixation pour divers facteurs protéiques. Le génome viral se circularise dans les quatre premières heures. La réplication se fait selon le modèle du cercle roulant, avec formation de concatémères qui seront coupés par la suite en génomes unitaires. Un complexe enzymatique codé par UL47 et UL48 est responsable du clivage. La génération des quatre isomères du génome se fait par inversion d'orientation des segments UL et US. Les répétitions directes *a*, situées aux extrémités du génome, joueraient le rôle d'élément régulateur en *cis* pour la recombinaison des deux segments.

3.1.3.2. Expression des gènes viraux tardifs, formation des virions et modifications morphologiques de la cellule

3.1.3.2.1. Phase tardive (γ)

La plupart des gènes tardifs codent pour des protéines et glycoprotéines structurales : protéines de capside, protéines de matrice, protéase, etc. L'expression génomique tardive est régulée par l'action des protéines IE1 et IE2, ainsi que par des facteurs agissant en *trans*, générés à la phase précoce.

Les protéines tardives T ou L (*late*) sont des protéines structurales, constitutives du virion mature. Il s'agit principalement du gène UL86 de la protéine majeure de capside (150 kDa), du gène UL46 de la protéine mineure de capside et du gène UL80, qui code une protéine d'assemblage de la capside.

3.1.3.2.2. Encapsidation

L'ADN clivé est empaqueté dans les précapsides avant leur passage dans le cytoplasme cellulaire.

Les répétitions directes *a* interviennent dans le « packaging » du génome, la capside : elles contiennent les séquences *pac-1* et *pac-2* homologues de celles connues chez HSV-1. Les protéines structurales du CMV intervenant à l'étape d'encapsidation sont la protéine mineure de capside (UL46), responsable de l'ancrage de l'ADN, et la DNase alcaline ou pUL98.

Les produits géniques de UL80 jouent un rôle important dans la maturation des virions. Deux protéines dérivent de UL80 par le biais d'un précurseur de 708 acides aminés (185 kDa) : une phosphoprotéine non structurale de 37–45 kDa, la « protéine d'assemblage », correspondant à l'extrémité C-terminale du précurseur (UL80a), et une sérine-protéase de 30 kDa, « l'assembline », dérivant de l'extrémité N-terminale. Le clivage se fait par mécanisme autocatalytique : la protéase est libérée avant de cliver la protéine d'assemblage intervenant dans la maturation du virion. Les deux protéines UL80 sont retrouvées dans la capside au cours de la maturation, ainsi que dans les particules non infectieuses.

3.1.3.2.3. Modifications morphologiques de la cellule

Les études en microscopie électronique montrent que les nucléocapsides s'accumulent dans le noyau pour former une inclusion typique, donnant en microscopie optique l'image caractéristique en « œil de hibou ». Ces nucléocapsides suivent un trajet de maturation au travers d'un réseau fibrillaire constitué de protéines virales de structure et d'ADN. La formation des capsides précède le packaging de l'ADN viral. Les capsides s'enveloppent à partir du feuillet interne de la membrane nucléaire. Les particules passent alors dans les citernes périnucléaires. Au cours d'un cheminement au travers de vésicules intracytoplasmiques, il pourrait y avoir succession de perte et de réacquisition de membrane par les nucléocapsides. Les cellules infectées semblent produire d'autant plus de virions qu'elles ont un appareil de Golgi développé. Les glycoprotéines virales sont progressivement incorporées dans les systèmes membranaires au fur et à mesure de la maturation. Comme pour HSV-1, plusieurs formes de capsides peuvent être observées dans la cellule, correspondant aux différents stades de la morphogenèse virale. Les capsides A, intranucléaires, ne contiennent pas d'ADN. Les capsides B, intranucléaires, contiennent de l'ADN viral mais ne sont pas enveloppées. Les capsides C correspondent aux capsides matures dépourvues d'enveloppe. Trois types de

particules sont observables au cours de l'infection : les virions complets, les « corps denses » (en quantité équivalente à celle des virions) et les particules enveloppées non infectieuses. Les corps denses, accumulés dans le cytoplasme, contiennent exclusivement des protéines de matrice (essentiellement la pp65) au sein d'une enveloppe portant les glycoprotéines virales. Les particules non infectieuses, moins abondantes, possèdent une capside, mais la molécule d'ADN est absente ou tronquée. Une volumineuse inclusion cytoplasmique, caractéristique du CMV, se forme aux dépens du Golgi. Elle contient des nucléocapsides et des corps denses. Cette inclusion repousse et déforme le noyau cellulaire en lui donnant un aspect particulier de haricot. En culture sur fibroblastes, on ne note pas de lyse cellulaire ; les cellules infectées sont organisées en foyer, la propagation de l'infection se fait par contiguïté, de cellule à cellule, avec augmentation progressive de taille du foyer de l'infection.

3.1.4. Libération des virions

Les virions sont libérés de la cellule tardivement, environ 120 heures après le début de l'infection. In vitro, la moitié des particules virales formées est retrouvée libre dans le liquide de culture, l'autre moitié reste associée aux cellules.

3.2. Cycle abortif et latence

In vitro, le virion pénètre dans la cellule. Le blocage intervient dans l'absence d'expression du génome. La non permissivité d'une cellule serait liée à l'action inhibitrice exercée par des facteurs cellulaires sur la région régulatrice des gènes du complexe « très précoce » majeur (UL122–UL123). Ainsi, les monocytes sanguins ne sont pas permissifs pour le CMV car ils expriment des facteurs protéiques inhibiteurs. En passant à l'état de macrophage tissulaire, après exposition à des lymphocytes activés ou à l'hydrocortisone, ils deviennent permissifs. Cet exemple illustre l'importance de l'état de différenciation et d'activation de la cellule pour déclencher la réactivation du virus. L'état physique du génome latent est actuellement peu connu. Il est sous forme d'épisome dans les monocytes du sang périphérique. In vivo, certaines cellules, sans produire de virions, peuvent exprimer certaines protéines précoces.

Il n'existe pas de profils d'expression de l'état de latence aussi bien systématisés que pour le virus Epstein-Barr. Des messagers associés à la latence (*cytomegalovirus latency-associated transcripts* ou CLT) ont été décrits par une équipe. Deux ARN sont transcrits dans le même sens que les messagers du locus TP majeur (LSS1 et LSS2) en amont du site majeur de transcription des IE (*productive start site* ou PSS). Ces messagers interviennent dans la régulation des IE. Des petits peptides de 55, 45, 94, 59 acides aminés proviendraient de ces messagers. Des transcrits antisens complémentaires des IE1 exon 2-4 non épissés exprimeraient des peptides de 154 et 152 aa et participeraient à la régulation de la latence virale.

Pour en savoir plus

Baxter MK, Gibson W. Cytomegalovirus basic phosphoprotein (pUL32) binds to capsids in vitro through its amino one-third. J Virol 2001 ; 75 : 6865-73.

Beisser PS, Laurent L, Virelizier JL, Michelson S. Human cytomegalovirus chemokine receptor gene US28 is transcribed in latently infected THP-1 monocytes. J Virol 2001 ; 75 : 5949-57.

Bhella D, Rixon FJ, Dargan DJ. Cryomicroscopy of human cytomegalovirus virions reveals more densely packed genomic DNA than in herpes simplex virus type 1. J Mol Biol 2000 ; 295 : 155-61.

Bolovan-Fritts CA, Mocarski ES, Wiedeman JA. Peripheral blood CD1 (+) cells from healthy subjects carry a circular conformation of latent cytomegalovirus genome. Blood 1999 ; 93 : 394-8.

Chen DH, Jiang H, Lee M, Liu F, Zhou ZH. Three-dimensional visualization of tegument/capsid interactions in the intact human cytomegalovirus. Virology 1999 ; 260 : 10-6.

He Z, He YS, Kim Y, Chu L, Ohmstede C, Biron KK, Coen DM. The human cytomegalovirus UL97 protein is a protein kinase that autophosphorylates on serines and threonines. J Virol 1997 ; 71 : 405-11.

Hewitt EW, Gupta SS, Lehner PJ. The human cytomegalovirus gene product US6 inhibits ATP binding by TAP. Embo J 2001 ; 20 : 387-96.

Kenzelmann M, Muhlemann K. Transcriptome analysis of fibroblast cells immediate-early after human cytomegalovirus infection. J Mol Biol 2000 ; 304 : 741-51.

Kotenko SV, Saccani S, Izotova LS, Mirochnitchenko OV, Pestka S. Human cytomegalovirus harbors its own unique IL-10 homolog (cmvIL-10). Proc Natl Acad Sci USA 2000 ; 97 : 1695-700.

Landini MP, Lazzarotto T, Xu J, Geballe AP, Mocarski ES. Humoral immune response to proteins of human cytomegalovirus latency-associated transcripts. Biol Blood Marrow Transplant 2000 ; 6 : 100-8.

Penfold ME, Dairaghi DJ, Duke GM, Saederup N, Mocarski ES, Kemble GW, Schall TJ. Cytomegalovirus encodes a potent alpha chemokine. Proc Natl Acad Sci USA 1999 ; 96 : 9839-44.

Prichard MN, Gao N, Jairath S, Mulamba G, Krosky P, Coen DM, Parker BO, Pari GS. A recombinant human cytomegalovirus with a large deletion in UL97 has a severe replication deficiency. J Virol 1999 ; 73 : 5663-70.

Prichard MN, Penfold ME, Duke GM, Spaete RR, Kemble GW. A review of genetic differences between limited and extensively passaged human cytomegalovirus strains. Rev Med Virol 2001 ; 11 : 191-200.

White KL, Slobedman B, Mocarski ES. Human cytomegalovirus latency-associated protein pORF94 is dispensable for productive and latent infection. J Virol 2000 ; 74 : 9333-7.

Wolf DG, Courcelle CT, Prichard MN, Mocarski ES. Distinct and separate roles for herpesvirus-conserved UL97 kinase in cytomegalovirus DNA synthesis and encapsidation. Proc Natl Acad Sci USA 2001 ; 98 : 1895-900.

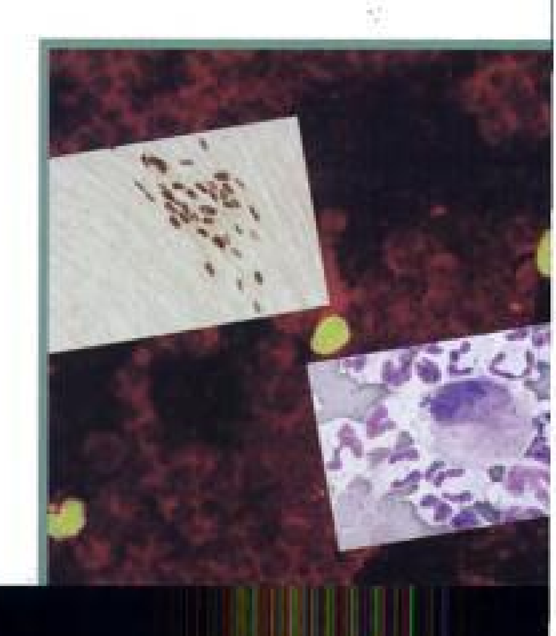
Wolf DG, Honigman A, Lazarovits J, Tavor E, Panet A. Characterization of the human cytomegalovirus UL97 gene product as a virion-associated protein kinase. Arch Virol 1998 ; 143 : 1223-32.

Wu J, O'Neill J, Barbosa MS. Late temporal gene expression from the human cytomegalovirus pp28US (UL99) promoter when integrated into the host cell chromosome. J Gen Virol 2001 ; 82 : 1147-55.

Cytomégalovirus

Physiopathologie de l'infection à cytomégalovirus

Jean-Luc Davignon



La capacité du cytomégalovirus humain (CMV) à disséminer chez son hôte et à infecter de nombreux types cellulaires détermine la multiplicité des présentations cliniques de l'infection. Les particules virales, dès leur contact avec les cellules cibles, peuvent induire des modifications du métabolisme cellulaire qui influent sur la physiologie cellulaire et la pathogenèse. Ces modifications peuvent être dues soit aux ARN messagers et protéines contenus dans les particules virales, soit aux facteurs de transcription induits. Les cytokines produites, l'augmentation d'expression des molécules d'adhésion cellulaire modifient les interactions cellulaires et les signaux. Les altérations de l'apoptose dans les cellules infectées, les modifications du cycle cellulaire contribuent à créer un environnement propice à l'infection, mais peuvent être aussi à l'origine de manifestations cliniques. Le CMV est impliqué dans les rejets de greffe et la réaction du greffon contre l'hôte, et son implication dans l'athérosclérose primaire est débattue. La nature de l'équilibre entre le virus et son hôte conditionne la physiopathologie de l'infection et ses conséquences sur les différents organes atteints. Les conditions de la latence et de la réactivation virale sont donc déterminantes. Le système immunitaire, par son influence sur la latence et sur l'infection active, peut contrôler l'évolution de la pathogenèse et induire des effets cytopathiques par cytotoxicité directe ou production de cytokines de type inflammatoire. L'immunosuppression induite par l'infection à CMV est également un facteur déterminant de la physiopathologie.

1. Interactions de l'infection virale avec le métabolisme cellulaire

1.1. Molécules impliquées dans la recirculation et l'adhésion cellulaire

L'infection par le CMV modifie l'expression de molécules d'adhésion (également régulées de façon positive lors de l'inflammation). Le *tableau 1* résume ces modifications.

L'augmentation de l'expression d'ICAM-1 (CD54) est la mieux documentée par de nombreux travaux. Le mécanisme évoqué est celui d'une interaction des protéines très précoces IE avec le promoteur d'ICAM-1. Un autre mécanisme évoqué est celui de la production d'IL-1β par les cellules infectées qui, par effet paracrine, induirait l'expression de molécules liées à l'inflammation comme VCAM-1, ICAM-1 et E-sélectine.

Cependant, certains auteurs n'ont pas pu mettre en évidence l'induction de marqueurs comme ELAM-1 et VCAM-1. Ces divergences sont peut-être dues à l'utilisation de souches virales ou de cellules cibles différentes. En effet, Fletcher et al. ont montré l'augmentation ou la diminution d'expression de CD58 (LFA-3) selon les souches de CMV utilisées. L'augmentation de l'expression de LFA-3 induit l'adhésion des lymphocytes à des fibroblastes infectés. L'augmentation de LFA-3 met également en cause des produits de gènes activés pendant la période IE/E.

L'augmentation de ELAM-1 induit l'adhésion des polynucléaires aux cellules endothéliales. L'expression de LFA-3 semble liée à la susceptibilité à la lyse par les cellules *natural killer*. En revanche, en ce qui concerne les cellules épithéliales de rétine, il a été rapporté que l'induction d'expression de Fas-L par l'infection était impliquée dans la diminution de l'adhésion des neutrophiles. L'expression d'ICAM-1 n'augmentait pas cette adhésion.

Tableau 1. Altération de l'expression de molécules d'adhésion et de recirculation par le CMV.

Marqueur	Expression
ICAM-1 (CD54) : interagit avec LFA-1 (CD11a/CD18)	Augmentation
Intégrine α1β1 (CD49a/CD29) : interagit avec le collagène, la laminine	Diminution
LFA-3 (CD58) : interagit avec CD2	Augmentation/diminution*
ELAM-1 (E-sélectine) : interagit avec CLA	Augmentation
VCAM-1 : interagit avec intégrine VLA-4	Augmentation
Fas-L : interagit avec Fas (CD95)	Augmentation

*Selon les souches de virus (d'après Fletcher et al.).

Tableau 2. Modification de la production des cytokines par le CMV.

Cytokines et chimiokines dont la production est induite ou augmentée par le CMV	Cytokines et chimiokines dont la production ou la disponibilité sont diminuées par le CMV
Rantes[a, b]	Rantes[b]
Endothelial cell growth factor[c]	MCP-1[a, b]
TGF-β1[a, b]	
IL-1β[a, b]	
IL-6[a, b]	
IL-8[a, b]	
IFN-β[b]	
TNF-α[a, b]	
GM-CSF[b]	

[a]Modification de la production de l'ARNm ; [b]modification de la production de la protéine ; [c]détection d'une activité.

1.2. Cytokines

L'induction du facteur de transcription NF-KB dès le contact du CMV avec les cellules permissives pourrait stimuler de nombreux gènes cellulaires contenant des sites de fixation à ce facteur, en particulier les gènes codant les cytokines *(tableau 2)*.

Le CMV stimule la production d'Il-1β par la liaison des glycoprotéines d'enveloppe gB et gH qui induit le gène de l'IL-1β et par la stimulation de la transcription de l'IL-1β due à IE2. L'augmentation de production de l'IL-6 dans les cellules infectées est également rapportée. La concentration d'IL6 est augmentée dans le sérum et le liquide de lavage alvéolaire des transplantés pulmonaires au cours de l'infection par le CMV. Cette cytokine inflammatoire est impliquée dans les rejets de greffe allogénique et il a été émis l'hypothèse qu'elle pourrait amplifier l'induction du rejet au cours de l'infection. L'augmentation de production d'IL-8, une chimiokine de type CXC, est due au moins en partie à IE1 qui suffit à son induction. La production d'IL-8 par les cellules endothéliales infectées induit la migration et le recrutement des neutrophiles, recrutement contribuant à la dissémination du virus. La propriété de l'IL-8 de favoriser la réplication du CMV et d'inhiber l'effet antiviral de l'IFN-γ contribue également à son rôle dans la physiopathologie de l'infection. L'IL-13, une cytokine de type TH2, favorise la réplication du virus.

Les conséquences des augmentations de production du TGF-β et du TNF-α peuvent être considérées comme opposées, une cytokine augmentant l'infection in vitro, l'autre l'inhibant. Dans les deux cas, les produits de gènes très précoces sont impliqués dans l'activation des promoteurs. L'augmentation des taux sériques de TNF-α ou de ses récepteurs lors de l'infection mettent en scène le TNF-α comme acteur de l'infection. Cependant, aucune relation causale n'a été établie entre TNF-α et infection par le CMV.

D'autres modifications ont pour conséquence la stimulation de la prolifération des cellules endothéliales comme la production de facteur de croissance de cellules endothéliales (ECGF), l'inhibition de l'induction des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II (IFN-β) et l'augmentation de GM-CSF.

Le CMV exprime de nombreux gènes codant des analogues de molécules régulatrices de l'inflammation ou de la réponse immunitaire. Parmi ceux-ci, l'analogue d'α-chimiokine CXC codé par UL146 est fonctionnel et pourrait influencer la migration des neutrophiles au cours de l'infection. La fonction éventuelle du produit d'UL147, également analogue d'α-chimiokine, est inconnue. En ce qui concerne les chimiokines de type CC, Rantes occupe une position particulière dans la mesure où son induction par l'infection est atténuée sur le plan fonctionnel par la synthèse par la cellule du produit du gène viral *US28*, un analogue de récepteur de chimiokine *(tableau 3)*. La conséquence en est la séquestration de Rantes mais aussi de MCP-1, une autre chimiokine. Les conséquences de cette

Tableau 3. Analogues de cytokines et chimiokines cellulaires ou de leurs récepteurs.

Gène viral	Protéine virale
UL111a	cmvIL-10 (IL-10 viral)
UL146	vCXC-1 (analogue de chimiokine)
UL147	?
US27, US28, UL33	CMV-GCP (analogue de récepteur de CC-chimiokine)

Tableau 4. Inhibition ou augmentation de l'infection par les cytokines.

Cytokines qui augmentent l'infection	Cytokines qui inhibent l'infection
TGF-β	bFGF
IL-8	IFN-γ
IL-13	TNF-α
	IL-1β
	IFN-α
	IFN-β

séquestration sur la physiopathologie pourraient s'avérer importantes *(tableau 3)*. Les conséquences de la synthèse de l'IL-10 viral, mise en évidence récemment, pourraient être une immunosuppression.

Les cytokines modifient certains paramètres de l'infection *(tableau 4)*. Les effets antiviraux connus de l'interféron alpha, bêta et gamma s'appliquent également au CMV. Le mécanisme d'action de l'IFN-γ sur les cellules épithéliales de la rétine a été examiné par Bodaghi et al. qui montrent un rôle de l'indoléamine 2,3 dioxygénase et du monoxyde d'azote. Dans le même modèle, l'IFN-β possède une activité anti-CMV. Un des mécanismes d'action anti-CMV de l'IFN-γ pourrait passer par la modulation de TRAIL et du récepteur de TRAIL (qui sont des protéines de surface de la famille des récepteurs au TNF-α) sur les cellules infectées.

L'effet anti-CMV additif de l'IFN-γ et du TNF-α a été montré in vitro sur des cellules tumorales de type astrocytaire. L'infection d'astrocytes en culture primaire est inhibée par l'IL-1β, l'IFN-γ et le TNF-α. Il est possible que l'effet inhibiteur du *basic fibroblast growth factor* sur la réplication du virus soit lié à ses propriétés de stimuler la croissance cellulaire ou à sa capacité à fixer l'héparine. De façon opposée, le TGF-β, qui est produit par les cellules infectées, inhibe la croissance cellulaire et stimule l'infection par le CMV.

1.3. ARN messagers et protéines inclus dans les particules virales

Les particules virales peuvent transporter et faire incorporer à la cellule des protéines et des ARNm cellulaires et viraux *(tableau 5)*. L'incorporation d'ARNm

Tableau 5. Protéines et ARNm inclus dans les particules virales.

Protéines		ARNm	
Cellulaires	Virales	Cellulaires	Viraux
PP2A CD55 CD59 ADN polymérase Protéine kinase Annexine II	Environ 30 protéines codées par le génome du CMV sont contenues dans les particules virales	GADPH U1A	UL21.5 (L) TRL/IRL4 (E) TRL/IRL7 (E) UL106-109 (IE) IRL13

pourrait permettre la production de protéines virales avant que le virus ne devienne actif sur le plan transcriptionnel. L'incorporation des protéines cellulaires (CD55 et CD59) pourrait induire la résistance à la lyse médiée par le complément, changer le métabolisme cellulaire et déphosphoryler des protéines cellulaires (PP1 et PP2A, phosphatases cellulaires). Mais il est possible que l'incorporation non spécifique de matériel cellulaire et d'ARN viral par les particules virales au cours de leur maturation ne soit qu'une conséquence de l'enveloppement des particules virales sans aucune fonction spécifique.

1.4. Induction et régulation de facteurs de transcription

La fixation des particules virales du CMV peut induire la synthèse ou l'activation de facteurs de transcription cellulaires. Les conséquences de l'activation de la transcription cellulaire ne sont pas toutes connues. La fixation du CMV sur les cellules permissives permet à elle seule l'activation de NF-KB. La fixation de la protéine gB de la particule virale induit l'activation de facteurs impliqués dans la voie de stimulation médiée par l'IFN-γ. L'induction de facteurs tels que ERK1 et ERK2, ainsi que le 2'-5' oligoadénylate synthétase et l'ISG54, contribuent à une dérégulation de la cellule cible. Une étude plus systématique à l'aide de puces à ADN montre l'augmentation de la transcription de très nombreux gènes cellulaires, y compris de gènes normalement activés par l'IFN-γ. Ces activations pourraient faire intervenir les cytokines déjà mentionnées plus haut et d'autres cytokines ou facteurs cytopathiques et sont probablement à la base de nombreux aspects physiopathologiques du CMV.

1.5. Apoptose

L'induction d'apoptose et la résistance à l'induction d'apoptose par le CMV ont été décrites in vitro *(tableau 6)*.

Plusieurs gènes inhibent l'apoptose dans différentes conditions. Un gène viral (*UL37*), exprimé dans les mitochondries, est capable d'inhiber l'apoptose induite par le TNF-α ou l'anti-Fas en présence de cycloheximide. La protéine produite possède des propriétés analogues à Bcl-2, mais en est différente sur le plan structural. Dans un autre système, l'expression de IE1 et IE2 bloque l'apoptose induite par le TNF-α et la protéine d'adénovirus E1b. Il a également été suggéré que l'association entre IE2 et p53 puisse prévenir l'induction d'apoptose médiée par

Tableau 6. Protéines virales ou cellulaires (induites par l'infection) et leurs relations possibles avec l'apoptose.

Inducteurs d'apoptose	Inhibiteurs d'apoptose
TRAIL	UL122 (IE2)
TRAIL-R	UL123 (IE1)
Fas-L	UL144
Fas	UL37, UL36
	Séquestration de p53
	Interaction IE2/p53 ?

p53 et ainsi contribuer à la sténose des coronaires. Ces résultats n'ont pas été confirmés. La séquestration de p53 dans des compartiments cellulaires pourrait contribuer à des modifications de l'apoptose par l'infection. La mise en évidence dans le génome de souches cliniques d'un gène viral (*UL144*), homologue de récepteur au TNF-α, suggère la capacité du virus à inhiber l'apoptose induite par les ligands de la famille des récepteurs du TNF-α. Cette propriété d'UL144 n'a cependant pas encore été démontrée.

L'induction d'apoptose par le CMV dans certaines conditions pourrait favoriser la capture par les cellules dendritiques et la présentation de pp65 contenu dans les corps apoptotiques aux lymphocytes T CD8+. Les neutrophiles en co-culture avec des cellules épithéliales de rétine entrent en apoptose. Ce phénomène est probablement induit par l'augmentation d'expression de Fas-L par les RPE à la suite de l'infection. L'induction de Fas par l'infection à la surface des fibroblastes a également été rapportée. L'induction de TRAIL-R1 et 2 par le CMV pourrait contribuer à l'induction d'apoptose des cellules infectées. L'induction de TRAIL par l'IFN-γ et le CMV mais la diminution de TRAIL-R par l'IFN-γ sur les cellules non infectées serait un mécanisme permettant l'induction d'apoptose sur les cellules infectées seulement.

1.6. Cycle cellulaire

Le virus, en inhibant la synthèse d'ADN cellulaire, optimise la réplication de son propre ADN. Cette inhibition aboutit à l'arrêt du cycle cellulaire avant la mitose. De nombreux gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire sont perturbés lors de l'infection. Ces effets incluent l'augmentation des cyclines B et E, la diminution de la cycline A, l'hyperphosphorylation de Rb, la stabilisation et la séquestration de p53, l'altération de la localisation subcellulaire de la kinase cdk2. La protéine virale codée par UL69, incluse dans le virion, est capable d'arrêter la progression de la phase G1 vers la phase S du cycle cellulaire. Les conséquences physiopathologiques de ces perturbations du cycle cellulaire (altérations des chromosomes, arrêt mitotique), même en l'absence de réplication totale du CMV, pourraient être importantes, par exemple chez le fœtus et chez l'adulte au niveau des artères.

2. Tropisme

L'acquisition du virus par voie respiratoire, sexuelle, sanguine ou maternofœtale est suivie d'une phase de dissémination sanguine au cours de laquelle le virus atteint ses organes cibles. Du fait de la distribution ubiquitaire des cibles cellulaires du virus (cellules épithéliales, endothéliales et fibroblastiques), tout organe peut être atteint et des antigènes viraux ou l'ADN ont été mis en évidence dans de nombreux tissus examinés. Appelé à l'origine « virus des glandes salivaires », le CMV a classiquement un tropisme pour les cellules de type épithélial glandulaire. Ainsi les cellules épithéliales de l'estomac, du foie, de l'intestin et du rein sont souvent infectées et ces organes sont le siège de manifestations pathologiques.

2.1. Récepteur(s)

Ce tropisme cellulaire très étendu in vivo suggère l'utilisation de récepteurs exprimés sur un grand nombre de cellules ou des mécanismes multiples de pénétration dans les cellules. Les glycoprotéines d'enveloppe virale gB, gH/gL et gCII jouent un rôle dans l'entrée du CMV dans la cellule comme le montre le blocage de la pénétration du virus par des anticorps anti-gB ou anti-gH. Le ou les récepteurs cellulaires du CMV ne sont pas clairement identifiés.
Le traitement de cellules par l'héparine bloque l'infection, ce qui montre l'implication d'héparan sulfate. Cette étape fait intervenir les glycoprotéines d'enveloppe gCII, gB qui possèdent toutes les deux des propriétés de fixation à l'héparine et elle est visible à 4 °C. CD13, une ectopeptidase, est également impliquée dans l'étape de fixation de haute affinité, comme le montre la fixation du CMV humain sur des cellules de souris exprimant la molécule CD13 humaine. Les étapes suivantes de pénétration mettent en jeu des protéines de la surface cellulaire qui ne sont pas toutes identifiées. Parmi celles-ci figurent l'annexine II (récepteur présumé de gB) et une protéine de 92,5 kDa (récepteur présumé de gH). La protéine de 92,5 kDa a été identifiée sur des fibroblastes à l'aide d'anti-idiotype d'anticorps dirigés contre la protéine gH. Le clonage du gène codant la protéine de 92,5 kDa n'a pas été rapporté à ce jour, et la nature exacte de cette protéine n'a pas été identifiée. L'annexine II, fixée à gB, a été retrouvée sur les particules virales et un antisérum de lapin contre l'annexine II inhibe l'infection de fibroblastes. Cependant, la participation de l'annexine II dans l'entrée du CMV dans la cellule hôte n'est pas retrouvée dans l'étude par Pietropaolo et Compton. Le rôle de l'annexine II et de sa fixation à gB sont donc à réévaluer.

2.2. Cellules cibles de l'infection in vivo

In vitro, de nombreux types cellulaires sont maintenant utilisés pour étudier le tropisme du CMV *(tableau 7)*. Les fibroblastes sont classiquement les cellules les

Tableau 7. Tropisme du CMV in vitro et in vivo.

In vitro	In vivo
Fibroblastes Astrocytes Cellules musculaires lisses Cellules endothéliales Macrophages Cellules dendritiques immatures Cellules épithéliales (intestin, rétine) Cellules du trophoblaste Cellules stromales de la moelle Mégacaryocytes Cellules souches hématopoïétiques CD34⁺ Hépatocytes	• Cellules épithéliales (glandes salivaires, foie, reins, estomac, intestin...) • Multiples types cellulaires : rétinocytes fibroblastes astrocytes cellules musculaires lisses cellules endothéliales macrophages cellules du trophoblaste endomyocarde mésenchyme pulmonaire cellules stromales de la moelle hépatocytes

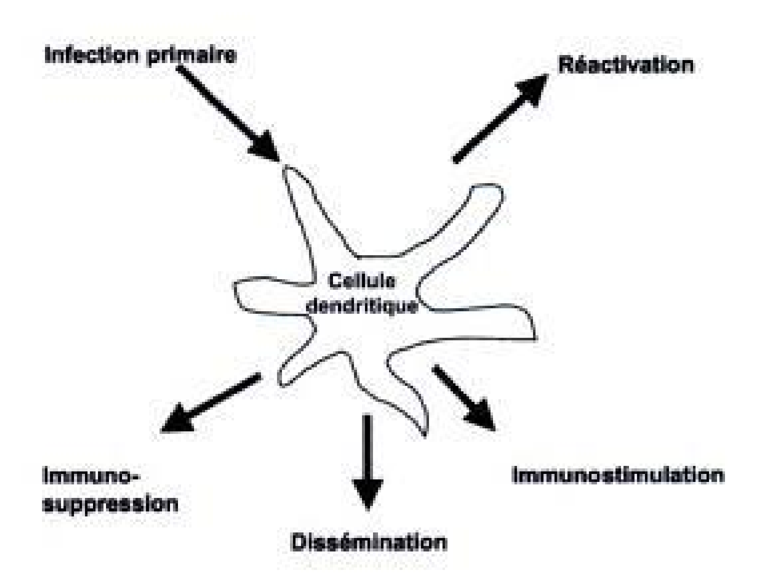


Figure 1. Rôle central de la cellule dendritique dans l'infection par le CMV (d'après John et al.).

plus permissives in vitro et le titre de virus produit par ces cellules est le plus élevé de tous les types cellulaires. La permissivité d'autres lignées cellulaires ou de cellules prélevées ex vivo a permis non seulement de confirmer le tropisme du CMV pour des organes cibles mais aussi d'étudier les mécanismes qui permettent la réplication dans tel ou tel type cellulaire.

Le tropisme du CMV pour les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques mérite une attention particulière car il s'adresse à des cellules présentatrices d'antigène dites « professionnelles », déterminantes pour la réponse immunitaire. De plus, elles jouent un rôle majeur dans la dissémination virale et la latence, le monocyte du sang périphérique en étant un des principaux sites. La différenciation du monocyte en macrophage permet la réplication complète du virus in vitro. Les souches virales cliniques adaptées sur cellules endothéliales sont particulièrement efficaces. In vivo, il est possible de mettre en évidence des macrophages tissulaires pulmonaires ou gastro-intestinaux infectés chez des patients immunodéprimés. L'infection de ces types cellulaires devrait permettre une présentation efficace des antigènes viraux produits aux effecteurs de la réponse immune. La cinétique d'infection des cellules dendritiques est plus lente que dans les fibroblastes, mais elle induit un effet cytopathique et une lyse complète des cellules après 12 jours d'infection : la destruction de ces cellules centrales dans l'induction de la réponse immune pourrait interférer avec cette réponse. Une illustration du rôle central de la cellule dendritique dans l'infection par le CMV est représentée en *figure 1*.

Sur le plan de la dissémination virale, les monocytes/macrophages peuvent être considérés comme un réservoir, tant à cause de leur permissivité (après différenciation) que de leur capacité à héberger le CMV sous forme latente (voir paragraphe « Latence »). Toutefois, le CMV peut persister par séquestration dans les macrophages. Les particules virales ne sont pas libérées dans le milieu mais retrouvées dans des vacuoles qui ne permettent pas leur dégradation. Celles-ci ne sont pas encore complètement identifiées, mais s'avèrent ne pas être des

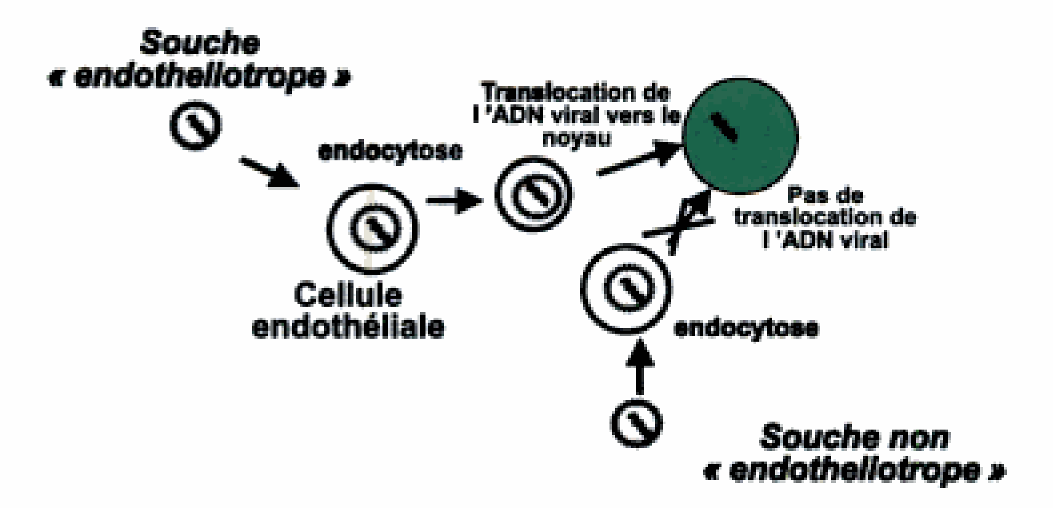


Figure 2. Entrée du CMV par endocytose dans les cellules endothéliales. Le tropisme du CMV pour les cellules endothéliales est déterminé par l'étape de translocation de l'ADN viral vers le noyau, indépendamment de la phase d'endocytose (d'après Sinzger et al., 2000).

lysosomes. La destruction du réseau de microtubules contribue probablement à la séquestration dans les macrophages.

Cible majeure du virus in vivo, les cellules endothéliales in vitro ne sont permissives qu'aux isolats récents et aux souches cultivées sur cellules endothéliales. Le tropisme pour les cellules endothéliales ne semble pas déterminé par l'étape d'entrée dans la cellule : le CMV rentre par fusion dans les fibroblastes et par endocytose dans les cellules épithéliales pigmentaires de la rétine (RPE) et les cellules endothéliales. C'est la capacité de l'ADN viral à migrer vers le noyau qui est en cause. Cette translocation est plus rapide pour les souches virales endothéliotropes que pour les souches ne possédant pas ce tropisme *(figure 2)*. L'infection lytique (Kahl et al.) ou non lytique des cellules endothéliales aortiques a été rapportée. Dans les deux cas, les cellules sont complètement permissives pour le CMV. Il est possible que la différence observée quant à la lyse soit due à la souche de virus utilisée, endothéliotrope (obtenue par culture sur cellules endothéliales) ou non.

L'infection des cellules souches myélomonocytaires a des conséquences importantes sur l'hématopoïèse en inhibant la formation de colonies. Cette inhibition est accrue par l'infection des cellules stromales de la moelle osseuse qui répliquent activement le virus. La permissivité des cellules $CD34^+$, l'entrée en latence dans des cellules myélomonocytaires et la capacité de réactiver le CMV in vitro suggèrent des capacités de dissémination virale importantes.

L'infection des cellules musculaires lisses est en cause dans les cas d'ulcération du tractus gastro-intestinal et d'éventuelles perforations. Ce tropisme pourrait également avoir des conséquences importantes sur le plan de la physiopathologie de l'athérosclérose. Ces cellules, sous-jacentes à la couche de cellules endothéliales vasculaires, sont totalement permissives pour le CMV. Cette hypothèse sera discutée dans le paragraphe consacré à l'athérosclérose. Dans les poumons, c'est l'infection des cellules épithéliales et des fibroblastes qui a été la plus fréquemment observée. En ce qui concerne le foie, l'infection des hépatocytes a

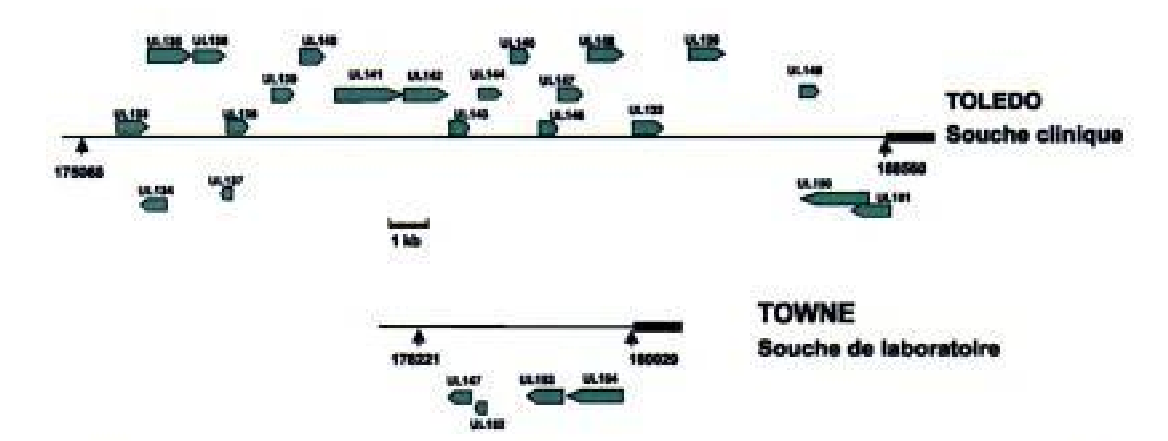


Figure 3. Variabilité génomique du CMV. ORF *(open reading frame)* supplémentaires dans les souches Toledo et Towne par rapport à la souche AD169 (d'après Cha et al.).

également été observée chez l'adulte et pourrait causer des dommages du parenchyme hépatique. Il ne s'agit pas néanmoins de la cellule le plus souvent infectée au cours des hépatites à CMV. Chez le nouveau-né, le virus infecte les cellules épithéliales des canaux bilaires, plus rarement les cellules endothéliales capillaires. Enfin, l'infection des cellules résidentes du système nerveux central (cellules gliales, neuronales, endothéliales) présente un intérêt particulier dans le contexte des infections congénitales et des encéphalites chez les patients immunodéprimés. Les neurones périphériques peuvent également être atteints, en particulier chez les patients infectés par le VIH

L'infection du trophoblaste a été décrite in vivo dans les tissus placentaires de fœtus infectés de façon congénitale. La démonstration que les cellules du trophoblaste sont permissives in vitro est un argument pour leur rôle dans la transmission maternofœtale du CMV. Les cellules du trophoblaste infectées produisent du virus avec une cinétique retardée par rapport aux fibroblastes. Le syncytiotrophoblaste est lui aussi infecté in vitro. La démonstration de passage du CMV des cellules du trophoblaste vers des fibroblastes adjacents mis en co-culture suggère un mode de transmission transplacentaire du CMV au cours de la grossesse. Une des hypothèses avancées est celle du passage du virus par le syncytiotrophoblaste et infection des cellules de trophoblaste sous-jacentes. Une autre est l'infection des cellules du trophoblaste invasif. Ce potentiel invasif est altéré par l'infection et cela pourrait constituer un des mécanismes responsables du retard de croissance fœtale in utero.

Les différences de tropisme et de niveau de réplication selon les souches virales et les types cellulaires a conduit à analyser la variabilité génétique des souches de virus. La région UL/b', siège de variabilité, a été séquencée. La comparaison de séquence des souches atténuées et cliniques a permis d'identifier 22 gènes (*UL133 à UL154*) présents dans les souches cliniques mais pas dans la souche AD169. De nombreux gènes d'importance, tels *UL144*, impliqué dans l'apoptose, *UL146* et *UL147*, analogues de chimiokines, sont localisés dans cette région *(figure 3)*. Il existe donc une interdépendance entre le tropisme du CMV et son génome : le passage répété du CMV sur culture de fibroblastes atténue sa virulence probablement

Tableau 8. Effets pathogènes du CMV.

Organes cibles	Conséquences
Rétine	Ulcérations, atrophie, cécité
Tractus gastro-intestinal	Érosions, ulcères Perforations
Hépatocytes	Altération du parenchyme hépatique, hépatite
Poumons	Érosions, ulcérations Pneumopathie
Vaisseaux	Dommage vasculaire Dissémination Athérosclérose ?
Cerveau	Principale cible de la maladie des inclusions cytomégaliques du nouveau-né

par perte de certains gènes qui ne sont pas indispensables à la réplication sur cellules hautement permissives. Il est probable que certains des gènes « perdus » au cours de l'atténuation sont directement impliqués dans le tropisme. La liaison directe entre la modification du tropisme du CMV par propagation in vitro et les changements du génome viral a été observée par passages répétés sur fibroblastes de souches endothéliotropes. En accord avec ces données sur le tropisme, l'injection à des volontaires sains de la souche virale atténuée (Towne) a entraîné une séroconversion mais n'a pas induit de maladie alors que l'injection de la souche clinique (Toledo) a provoqué l'apparition de signes cliniques. Un vaccin contre le CMV devra tenir compte de ces résultats et pourrait combiner par exemple les caractéristiques des virus atténués et des souches cliniques par expression ou élimination ciblée de certains gènes viraux.

2.3. Effets pathogènes du CMV

Le CMV peut être directement cytopathique. Le *tableau 8* résume les conséquences des effets directement cytopathiques avérés du CMV.
Les effets cytopathiques indirects du CMV pourraient être liés à différents facteurs dont la libération de cytokines dites inflammatoires et à l'augmentation de l'expression de molécules d'adhésion (voir paragraphes concernés). La réponse immune, par la production d'anticorps et la stimulation de lymphocytes T $CD4^+$ et $CD8^+$, pourrait contribuer à un effet cytopathique lié à la destruction de cellules infectées (lymphocytes T $CD8^+$) ou non infectées (lymphocytes T $CD4^+$, AC cytotoxiques).

3. Latence et réactivation

La latence est une des caractéristiques majeures des infections à Herpesviridae. Les sites de latence du CMV sont multiples. Les monocytes du sang périphérique et les progéniteurs de la moelle osseuse constituent certains de ces sites *(tableau 9)*. Le virus latent est également présent dans de nombreux types

Tableau 9. Mise en évidence de la latence et de la réactivation du CMV.

- Détection de l'ADN viral dans les monocytes CD14+ du sang périphérique
- Existence de forme circulaire du génome du CMV dans les cellules CD14+
- Présence de transcrits de gènes IE du CMV après différenciation (réactivation), sans détection de protéines
- Présence de transcrits spécifiques de la latence dans un modèle de latence utilisant les précurseurs de granulocytes-macrophages (GM-P)
- Production de virus après co-culture pendant 16 à 21 jours des GM-P (dans lesquels une infection latente a été induite de manière expérimentale) avec des fibroblastes
- Réactivation du CMV dans des cultures de macrophages dérivés de monocytes en cultures allogéniques

cellulaires au sein de différents tissus, notamment dans les cellules épithéliales, endothéliales et cellules musculaires lisses dans le poumon, le cerveau, le foie et le rein .

L'ADN viral peut être détecté par PCR et certains transcrits de la région IE produits après différenciation des monocytes in vitro. Une conformation circulaire du génome du CMV a été mise en évidence dans les monocytes. Ces résultats conduisent à l'implication des monocytes dans un rôle de réservoir et de dissémination virale par la voie sanguine. Le CMV ne se réplique pas dans les cellules de type précurseur de granulocyte-macrophage (GM-P) qui hébergent le virus à l'état latent. Kondo et al. ont utilisé ce modèle pour analyser la réactivation du CMV après 4 semaines d'infection puis co-culture avec des fibroblastes. Ces auteurs interprètent ces résultats comme une influence de la différenciation des GM-P en culture sur la réactivation. Des ARN messagers codés par le génome du CMV, spécifiques de la période de latence, ont également été mis en évidence dans ce modèle. Ces transcrits diffèrent de ceux qui sont produits pendant la période d'infection productive. Ces résultats n'ont pas été confirmés par d'autres équipes. Un des arguments pour l'existence de produits protéiques de ces transcrits est la présence, dans le sérum de patients, d'anticorps dirigés contre des protéines recombinantes produites à partir de ces transcrits. Leur rôle est pour l'instant inconnu.

Il est probable que le virus se réactive périodiquement chez l'individu immunocompétent. Ces épisodes de réactivation sont à l'origine d'excrétion intermittente de virus dans les sécrétions respiratoires, l'urine, le sperme, les sécrétions cervicales, sources potentielles d'infection ou de réinfection pour l'entourage du sujet excréteur. Le virus latent hébergé dans les monocytes et dans les cellules de différents tissus peut être transmis à l'occasion de la transfusion de produits sanguins labiles non déleucocytés ou de greffe d'organe et se réactiver chez le receveur.

La culture allogénique de cellules mononucléées du sang périphérique permet la différenciation des monocytes en macrophages et la réactivation du CMV. Ces expériences confirment la capacité de réactivation du CMV dans des conditions immunologiques qui pourraient mimer les conditions observées lors de la greffe ou de la transfusion sanguine. Cette réactivation dépend de la production de cytokines lors de l'alloréaction *(figure 4)*.

L'ensemble de ces données suggère que le système immunitaire joue un double rôle. Il est admis qu'il contrôle l'état de latence du CMV. En revanche, une stimulation du système immunitaire peut entraîner la réactivation virale comme le suggère l'effet des cytokines telles que l'IFN-γ et le TNF-α en culture.

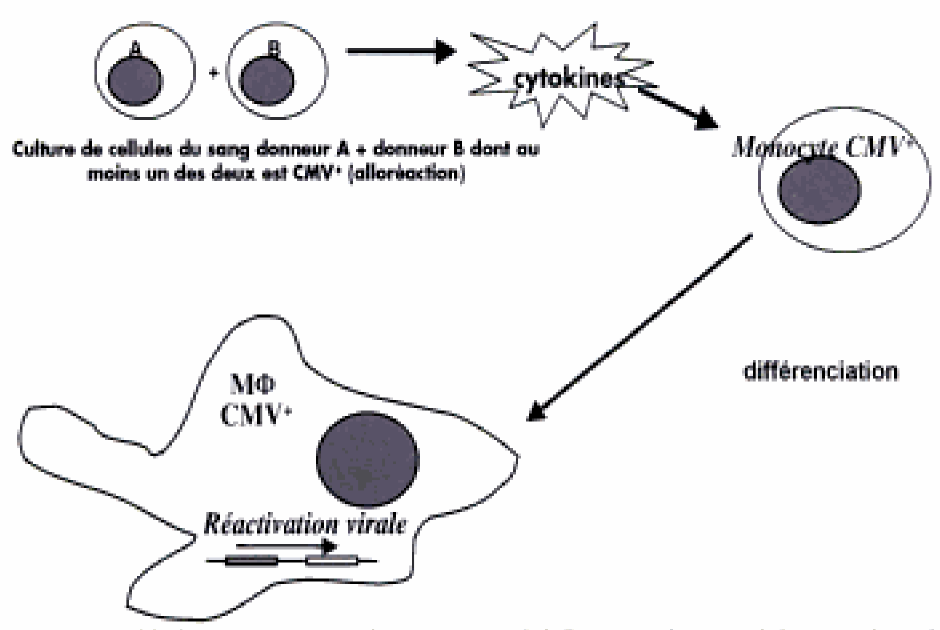


Figure 4. Modèle de réactivation in vitro du CMV au cours de l'alloréaction (d'après Soderberg-Naucler et al.).

4. Dissémination virale

La dissémination hématogène du virus joue un rôle central dans la physiopathologie de l'infection. Les cellules endothéliales, les monocytes/macrophages et les polynucléaires y contribuent. Les cellules endothéliales pleinement permissives répliquent le virus et peuvent le transmettre à d'autres types cellulaires. Elles peuvent se détacher, circuler et induire l'infection d'un organe en transmettant le virus aux cellules endothéliales capillaires. L'infection latente des monocytes peut être réactivée par la différenciation cellulaire dans des conditions d'immunosuppression et d'alloréaction. La capacité du CMV à persister dans les macrophages suggère très fortement que les monocytes/macrophages contribuent de façon significative à la dissémination virale, par exemple par transfert mutuel de particules virales avec les cellules endothéliales *(figure 5)*. Les cellules dendritiques, par leur capacité de capture et de migration, et leur interaction avec le système immunitaire, sont probablement des acteurs importants de la dissémination tissulaire du virus. Le transfert de particules virales et d'antigène pp65 par fusion de cellules endothéliales infectées et de polynucléaires a été démontré in vitro. Les polynucléaires ne sont pas eux-mêmes siège de réplication virale mais véhiculent le virus qu'ils peuvent à leur tour transmettre à des cellules endothéliales non infectées. Ce modèle de dissémination est présenté en *figure 6*.

Les gènes, *UL146 et UL147*, portés par les souches cliniques, codent des protéines homologues des α-chimiokines (CXC). Le produit d'*UL146*, vCXC1, se fixe au récepteur de chimiokines CXCR2 et possède des propriétés chimiotactiques analogues à celles des β-chimiokines (comme Rantes) et des α-chimiokines (comme l'IL-8). Les propriétés de vCXC1 et des α-chimiokines d'influencer la migration des neutrophiles suggère que l'expression de cette protéine puisse

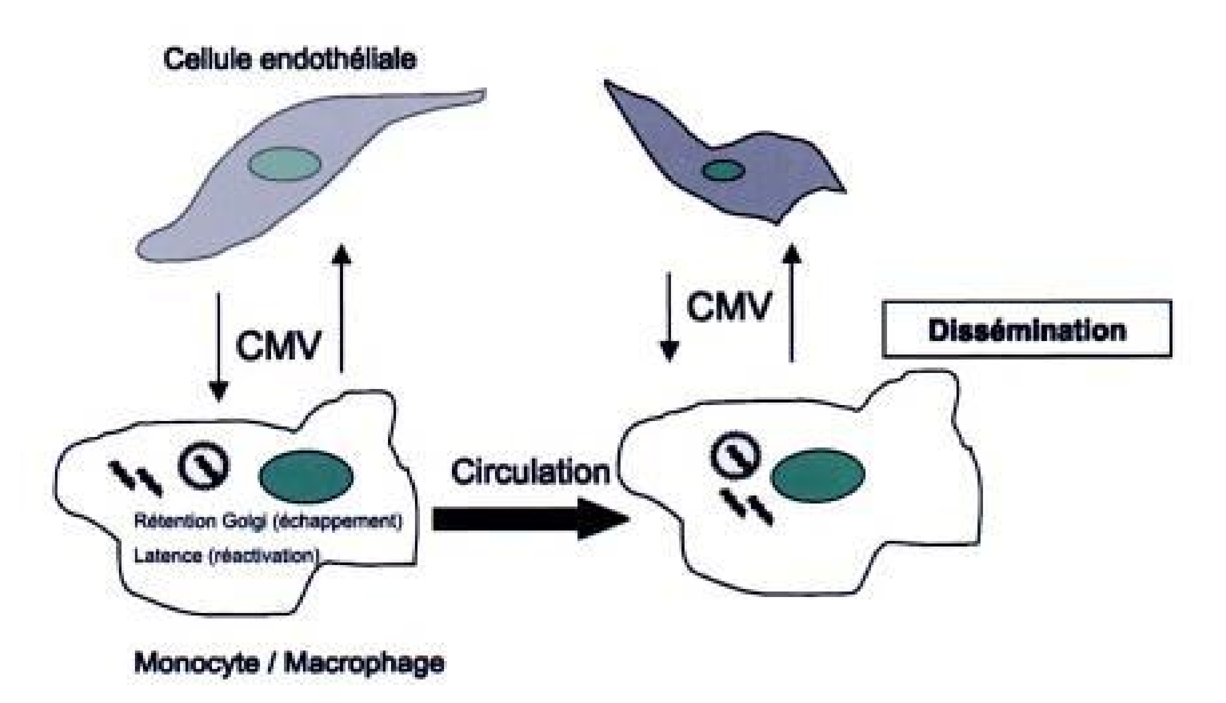


Figure 5. Modèle de dissémination du CMV par échange entre macrophages et cellules endothéliales (d'après Waldman et al.).

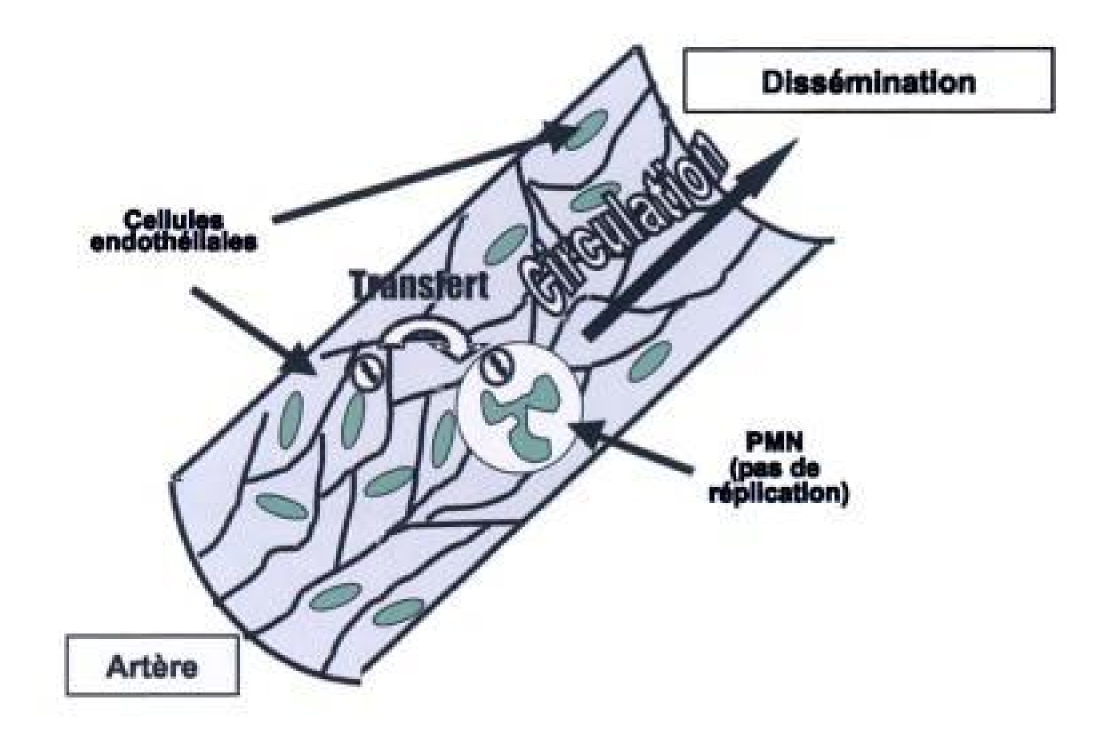


Figure 6. Modèle de dissémination du CMV par transfert de particules virales des cellules endothéliales vers les polynucléaires (PMN) (d'après Gerna et al.).

induire le recrutement de neutrophiles au lieu d'infection. Les particules virales et les cellules infectées phagocytées pourraient alors contribuer à la dissémination virale. Par ailleurs, l'induction d'IL-8 par l'infection de cellules peut contribuer également au recrutement de polynucléaires. Les analogues de récepteurs de chimiokines US27 et US28 pourraient au contraire perturber le trafic des lymphocytes T et inhiber leur migration vers le site d'infection et contribuer également à la dissémination virale.

L'infection des cellules souches hématopoïétiques par le CMV, qu'elle soit productive ou non, joue également un rôle dans la dissémination virale, à cause de la situation centrale de ces cellules.

L'apoptose induite par certaines souches de virus ou la résistance à l'apoptose provoquée par le TNF-α et Fas peuvent selon les circonstances (environnement, conditions immunologiques) être responsables de la dissémination ou de la persistance virale.

L'entrée et le maintien du CMV en latence constituent des mécanismes d'échappement du virus à la reconnaissance par le système immunitaire, dus à l'absence d'expression de protéines virales pendant cette phase.

5. Transplantation

5.1. Greffes de moelle osseuse

Dans les greffes de moelle osseuse, l'infection par le CMV reste un facteur important de mortalité et de morbidité chez les patients séropositifs pour le CMV *(tableau 10)*.

La lymphopénie est un facteur aggravant l'infection à CMV lors de transplantation de moelle osseuse. L'inhibition de formation de colonies due au CMV in vitro pourrait expliquer ces lymphopénies.

La pneumopathie interstitielle (PI) est la complication majeure de l'infection à CMV chez les receveurs de greffe de moelle.

Les mécanismes liés à cette pathologie sont controversés. Bien qu'il soit admis que les cellules endothéliales, épithéliales alvéolaires et les macrophages tissulaires des poumons sont infectés par le CMV, il demeure une incertitude quant au mécanisme, soit immunologique, soit directement cytopathogène du CMV lors des pneumopathies à CMV.

Tableau 10. Risque de maladie à CMV après transplantation allogénique de moelle osseuse (d'après Stocchi et al.).

Statut sérologie CMV		Risque de maladie à CMV	
Donneur	Receveur	Donneur apparenté	Donneur non apparenté
–	–	Très bas	Très bas
+	–	Modéré	Modéré
–	+	Élevé	Très élevé
+	+	Élevé	Très relevé

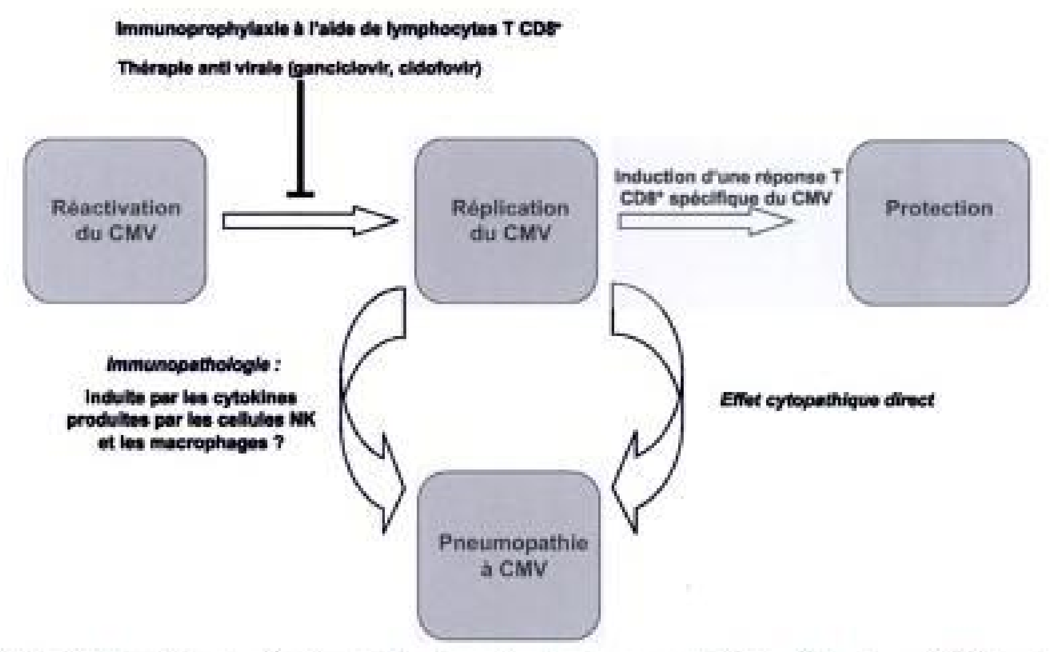


Figure 7. Proposition de mécanisme de la pathogenèse de la pneumopathie interstitielle due au CMV lors de transplantation de moelle osseuse (d'après Barry et al.).

Les arguments en faveur de l'hypothèse « immunologique » lancée par Grundy et al. reposaient essentiellement sur l'association statistique entre réaction du greffon contre l'hôte et PI, l'observation de l'absence de résolution des symptômes après traitement antiviral et les modèles d'infection de souris qui associaient la PI à une réponse lymphocytaire T. Cette réponse aurait donc, selon ce modèle, un effet néfaste sur le développement de la PI.

D'autres observations dans des modèles de souris suggèrent, qu'au contraire, la réponse lymphocytaire T CD8+ est associée à la résolution de l'infection. Celles-ci sont confirmées chez l'homme par les expériences de transfert de lymphocytes T CD8+ spécifiques du CMV qui montrent une corrélation entre la présence de lymphocytes T cytotoxiques et l'absence de pneumopathie. Enfin, une étude récente chez la souris montre de façon convaincante que les lymphocytes T CD8+ persistent dans les poumons plusieurs mois après résolution de l'infection et que leur transfert protège contre l'infection. Les arguments contre la responsabilité des lymphocytes T CD8+ et CD4+ semblent actuellement prédominer et favoriser l'hypothèse de l'effet directement cytopathogène du CMV lors des PI. Cependant, la piste inflammatoire pouvant impliquer les cytokines dérivées de macrophages et cellules NK n'est pas à négliger. Un schéma résumant l'ensemble des hypothèses (d'après Barry et al.) est présenté en *figure 7*.

5.2. Transplantation d'organe

La relation entre le rejet de greffe et l'infection par le CMV a été notée pour la première fois dans le cas de la transplantation rénale. L'association entre manifestations du rejet chronique de greffe cardiaque et infection par le CMV a été également bien établie. Ces premières observations ont établi les bases de l'implication du CMV non seulement dans le rejet de greffe mais aussi dans l'athérosclérose.

Le risque de rejet est augmenté par l'infection à CMV pour tous les types de greffes : cardiaque, pulmonaire, rénale, hépatique. La surexpression des protéines d'adhésion ICAM-1 (CD54), VCAM-1 et ELAM-1 observée sur les cellules endothéliales infectées in vitro et in vivo (voir paragraphe concerné), qui facilite la reconnaissance par les lymphocytes T des alloantigènes du greffon, est un des mécanismes proposés pour le rejet de greffe d'organes. La production de PDGF et de TGF-β a été observée (voir paragraphe concerné). Leur contribution est à envisager. Les cytokines dites inflammatoires induites lors de l'infection : IL-1β, IL-6, IL-8, IFN-β, TNF-α, pourraient également jouer un rôle dans le rejet de greffe. L'augmentation d'expression des molécules du CMH de classe I ou l'induction de CMH de classe II dans les zones inflammatoires infectées sous l'effet de la réponse immune est à envisager. Cependant, étant donné les mécanismes de régulation négative des molécules du CMH dans les cellules infectées, il est probable que l'effet de surexpression ou d'induction du CMH ne s'applique qu'aux cellules non infectées voisines du site d'infection.
Le rejet chronique est associé à des phénomènes d'artériosclérose du greffon favorisés par l'infection à CMV.
L'association entre infection à CMV et rejet peut également être observée en sens inverse. Le rejet favorise l'infection à CMV car il conduit à intensifier le traitement immunosuppresseur, ce qui, associé à la réaction allogénique de rejet, est un facteur de réactivation du virus.

6. Athérosclérose

L'hypothèse que le CMV contribue à l'induction de l'athérosclérose a été évoquée depuis le début des années 80 (pour revue, Bruggeman et al). Des études épidémiologiques ont mis en cause le CMV, mais la prévalence importante des infections à CMV rend les conclusions difficiles. Ces études suggèrent que les infections virales, et en particulier par le CMV, sont impliquées dans le développement de lésions d'athérosclérose. Les modèles animaux tels que la maladie de Marek due à un herpèsvirus chez le poulet et le modèle d'épaississement aortique dû au CMV chez le rat sont en faveur de cette hypothèse.
Le risque de rejet de greffe cardiaque est particulièrement associé à l'infection par le CMV et ce risque est associé au développement de lésions d'athérosclérose. Les mécanismes ne sont pas complètement élucidés. Il reste également à démontrer l'association formelle entre l'infection par le CMV et le développement d'athérosclérose en dehors du cadre de la transplantation.
Le risque de resténose postangioplastie est dans certains cas associé à une infection à CMV et ce risque a également été rapporté dans les cas de coronarectomie et résection de plaque d'athérome.
Des résultats expérimentaux récents viennent corroborer l'hypothèse virale de l'évolution de l'athérosclérose. Pampou et al. démontrent la présence de CMV à l'aide de techniques de détection d'ADN et de protéines dans les vaisseaux artériels issus de prélèvements d'autopsies de victimes de traumatismes. Cette étude montre la présence d'ADN viral dans les cellules endothéliales de 6/8 des prélèvements aortiques normaux et 16/18 des prélèvements de lésions vasculaires. En revanche, IE1 est exprimé dans 1/5 des prélèvements aortiques normaux et 6/7 des prélèvements de lésions vasculaires. Les cellules de l'intima/media des vaisseaux altérés contiennent également la protéine IE1,

Tableau 11. CMV et athérosclérose. Éléments physiopathologiques.

Types cellulaires potentiellement impliqués dans la relation CMV/athérosclérose	Arguments en faveur du rôle du CMV dans la pathogenèse de l'athérosclérose
Cellules endothéliales (permissives pour le CMV, détection du génome du CMV dans les lésions) Cellules musculaires lisses (cellules permissives, réponse aux chimiokines MCP-1 et Rantes après infection et expression d'US28) Macrophages (cellules réservoirs du CMV, migration des monocytes) Polynucléaires (dissémination du CMV par voie sanguine)	Importance de l'inflammation (protéine C-réactive) sur la relation entre l'infection par le CMV et la pathogenèse de l'athérosclérose Induction d'espèces réactives de l'oxygène par le CMV Induction d'une PLA2 cytosolique cellulaire, libération d'acide arachidonique, de cyclooxygénase, production de PGE2 L'infection des cellules musculaires lisses est inhibée par les anti-oxydants (N acétyl-cystéine, aspirine)

mais les plaques d'athérome proprement dites ne contiennent pas la protéine IE1, ce qui suggère son accumulation seulement dans des zones pré-athéromateuses. Une étude récente suggère que les individus qui présentent une réponse inflammatoire à l'infection par le CMV paraissent plus susceptibles à l'effet athérogène du CMV *(tableau 11)*. Expérimentalement, cette observation est confortée par le fait que l'infection par le CMV induit une réponse inflammatoire. L'incubation des cellules musculaires lisses avec des agents antioxydants tels que le N-acétyl cystéine inhibe l'expression de IE1 et la réplication virale. L'aspirine, qui inhibe les effets de la cyclooxygénase 2, possède également la propriété d'inhiber la réplication du CMV in vitro. Il apparaît donc que l'infectivité du CMV passe par un stress oxydatif et que la cyclooxygénase est impliquée dans les phénomènes inflammatoires liés à l'infection et à l'athérosclérose.

Par ailleurs, l'association décrite entre la protéine très précoce IE2 et p53 dans les cellules musculaires lisses infectées pourrait expliquer l'inactivation de p53 et donc une inhibition d'apoptose conduisant dans les vaisseaux à une prolifération anormale des CML infectées.

Sur le plan physiopathologique, le tropisme du CMV pour les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales est un argument en faveur de modifications de la paroi artérielle. L'épaississement de l'intima de la paroi artérielle et l'induction de la prolifération des cellules musculaires lisses de rat par le CMV dans un modèle d'alloréaction est une illustration des modifications possibles lors de l'athérosclérose humaine.

Dans les cellules musculaires lisses aortiques, le CMV induit un stress oxydatif et l'activation de NF-KB. L'activation d'une PLA2 cytosolique par le CMV conduit à la libération d'acide arachidonique. L'induction du stress oxydatif pourrait être due à cette libération d'acide arachidonique. Cette réaction est médiée par des protéines G.

Une hypothèse récente met en jeu le rôle de l'analogue de chimiokine US28, codé par le CMV (voir plus haut). L'infection des cellules musculaires lisses induit la synthèse d'US28 qui peut servir de récepteur aux CC-chimiokines et induire des signaux intracellulaires. Ces signaux conduisent à la motilité des CML dont la polarisation s'effectue vers les cellules qui expriment Rantes et MCP-1. L'expression endogène de MCP-1 et Rantes par les cellules musculaires lisses contribue à leur motilité (*figure 8*). L'hypothèse formulée suggère que l'accumulation

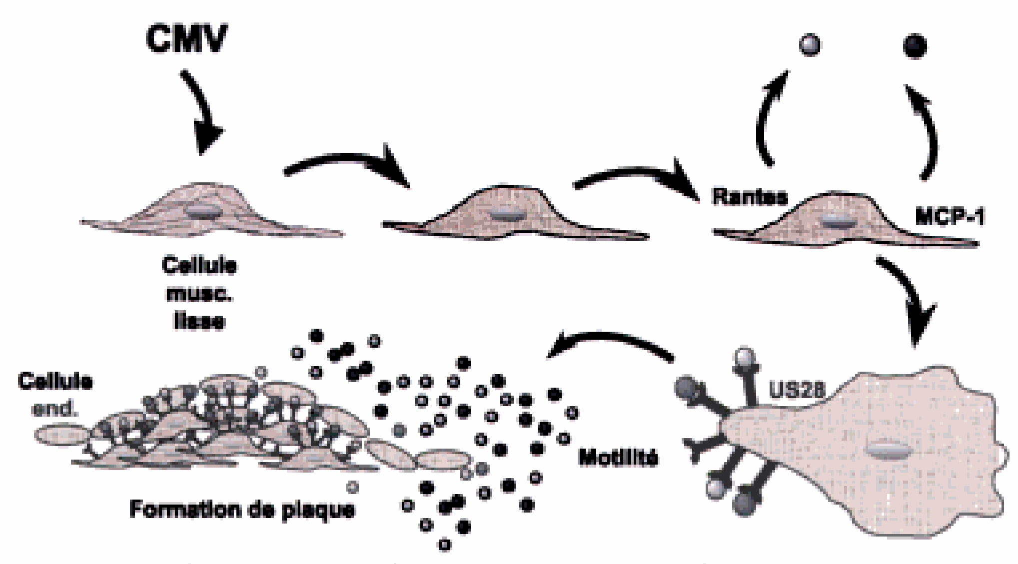


Figure 8. Hypothèse du rôle de US28 dans la migration des cellules musculaires lisses lors de maladie vasculaire (d'après Streblow et al.).

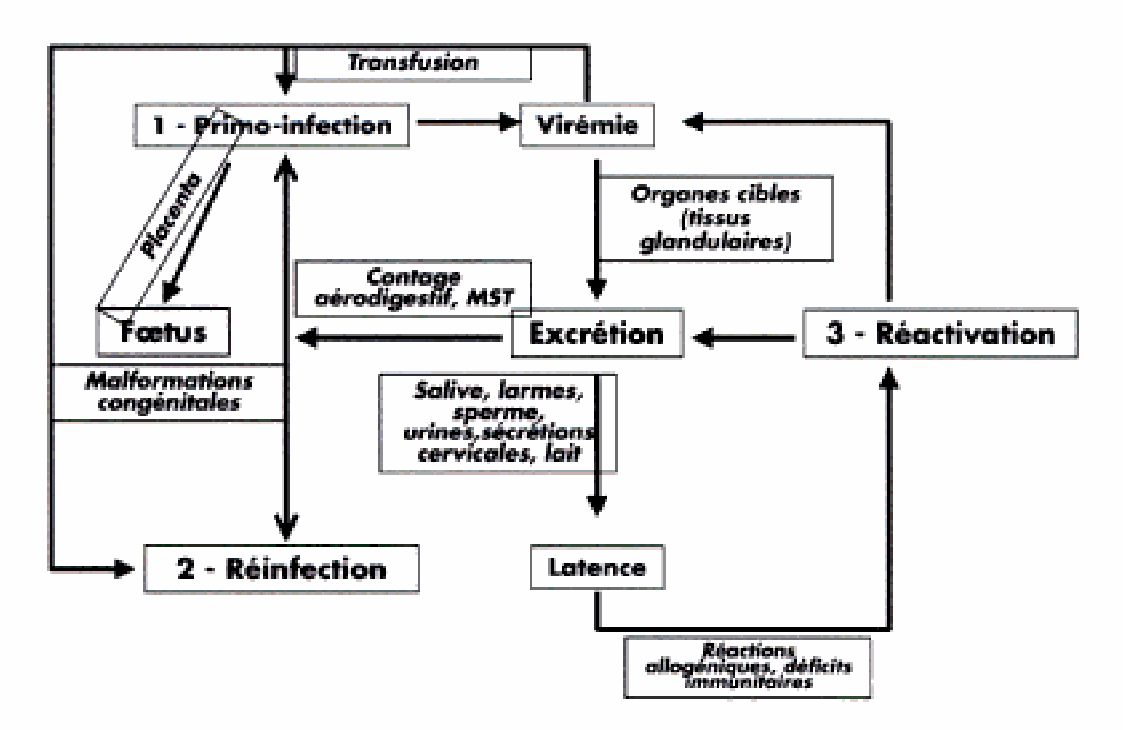


Figure 9. Physiopathologie des infections à CMV (adapté de A. Mamette, *Virologie médicale*).

des CML au lieu d'infection puisse reposer sur ce mécanisme de migration cellulaire induite par le CMV. L'induction de migration et de prolifération des cellules musculaires lisses par le CMV a été rapportée par ailleurs.

7. Conclusion

La *figure 9* résume le pléiotropisme du CMV et la diversité de sa physiopathologie. La combinaison des études cliniques et expérimentales devrait apporter des éléments importants dans le ciblage thérapeutique anti-CMV.

Pour en savoir plus

Interactions avec le métabolisme cellulaire

Molécules impliquées dans la recirculation et l'adhésion cellulaire

Burns LJ, Pooley JC, Walsh DJ, Vercellotti GM, Weber ML, Kovacs A. Intercellular adhesion molecule-1 expression in endothelial cells is activated by cytomegalovirus immediate early proteins. Transplantation 1999 ; 67 : 137-44.

Cinatl J Jr, Blaheta R, Bittoova M, Scholz M, Margraf S, Vogel JU, et al. Decreased neutrophil adhesion to human cytomegalovirus-infected retinal pigment epithelial cells is mediated by virus-induced Up-regulation of fas ligand independent of neutrophil apoptosis. J Immunol 2000 ; 165 : 4405-13.

Dengler TJ, Raftery MJ, Werle M, Zimmermann R, Schonrich G. Cytomegalovirus infection of vascular cells induces expression of pro-inflammatory adhesion molecules by paracrine action of secreted interleukin-1beta. Transplantation 2000 ; 69 : 1160-8.

Fletcher JM, Prentice HG, Grundy JE. Natural killer cell lysis of cytomegalovirus (CMV)-infected cells correlates with virally induced changes in cell surface lymphocyte function-associated antigen-3 (LFA-3) expression and not with the CMV-induced down-regulation of cell surface class I HLA. J Immunol 1998 ; 161 : 2365-74.

Grundy JE, Pahal GS, Akbar AN. Increased adherence of CD2 peripheral blood lymphocytes to cytomegalovirus-infected fibroblasts is blocked by anti-LFA-3 antibody. Immunology 1993 ; 78 : 413-20.

Sedmak DD, Knight DA, Vook NC, Waldman JW. Divergent patterns of ELAM-1, ICAM-1, and VCAM-1 expression on cytomegalovirus-infected endothelial cells. Transplantation 1994 ; 58 : 1379-85.

Span AH, Mullers W, Miltenburg AM, Bruggeman CA. Cytomegalovirus induced PMN adherence in relation to an ELAM-1 antigen present on infected endothelial cell monolayers. Immunology 1991 ; 72 : 355-60.

Cytokines

Alcami J, Barzu T, Michelson S. Induction of an endothelial cell growth factor by human cytomegalovirus infection of fibroblasts. J Gen Virol 1991 ; 72 : 2765-70.

Alcami J, Paya CV, Virelizier JL, Michelson S. Antagonistic modulation of human cytomegalovirus replication by transforming growth factor beta and basic fibroblastic growth factor. J Gen Virol 1993 ; 74 : 269-74.

Almeida GD, Porada CD, St Jeor S, Ascensao JL. Human cytomegalovirus alters interleukin-6 production by endothelial cells. Blood 1994 ; 83 : 370-6.

Almeida-Porada G, Porada CD, Shanley JD, Ascensao JL. Altered production of GM-CSF and IL-8 in cytomegalovirus-infected, IL-1-primed umbilical cord endothelial cells. Exp Hematol 1997 ; 25 : 1278-85.

Bodaghi B, Jones TR, Zipeto D, Vita C, Sun L, Laurent L, et al. Chimiokines sequestration by viral chemoreceptors as a novel viral escape strategy : withdrawal of chimiokiness from the environment of cytomegalovirus-infected cells. J Exp Med 1998 ; 188 : 855-66.

Bodaghi B, Goureau O, Zipeto D, Laurent L, Virelizier JL, Michelson S. Role of IFN-gamma-induced indoleamine 2,3 dioxygenase and inducible nitric oxide synthase in the replication of human cytomegalovirus in retinal pigment epithelial cells. J Immunol 1999b ; 162 : 957-64.

Cheeran MC, Hu S, Gekker G, Lokensgard JR. Decreased cytomegalovirus expression following proinflammatory cytokine treatment of primary human astrocytes. J Immunol 2000 ; 164 : 926-33.

Compton T, Nowlin DM, Cooper NR. Initiation of human cytomegalovirus infection requires initial interaction with cell surface heparan sulfate. Virology 1993 ; 193 : 834-41.

Davignon JL, Castanie P, Yorke JA, Gautier N, Clement D, Davrinche C. Anti-human cytomegalovirus activity of cytokines produced by CD4+ T-cell clones specifically activated by IE1 peptides in vitro. J Virol 1996 ; 70 : 2162-9.

Delannoy AS, Hober D, Bouzidi A, Wattre P. Role of interferon alpha (IFN-alpha) and interferon gamma (IFN-gamma) in the control of the infection of monocyte-like cells with human cytomegalovirus (HCMV). Microbiol Immunol 1999 ; 43 : 1087-96.

Fietze E, Prosch S, Reinke P, Stein J, Docke WD, Staffa G, et al. Cytomegalovirus infection in transplant recipients. The role of tumor necrosis factor. Transplantation 1994 ; 58 : 675-80.

Geist LJ, Monick MM, Stinski MF, Hunninghake GW. The immediate early genes of human cytomegalovirus upregulate tumor necrosis factor-alpha gene expression. J Clin Invest 1994 ; 93 : 474-8.

Grundy JE, Lawson KM, MacCormac LP, Fletcher JM, Yong KL. Cytomegalovirus-infected endothelial cells recruit neutrophils by the secretion of C-X-C chimiokiness and transmit virus by direct neutrophil-endothelial cell contact and during neutrophil transendothelial migration. J Infect Dis 1998 ; 177 : 1465-74.

Hatch WC, Freedman AR, Boldt-Houle DM, Groopman JE, Terwilliger EF. Differential effects of interleukin-13 on cytomegalovirus and human immunodeficiency virus infection in human alveolar macrophages. Blood 1997 ; 89 : 3443-50.

Hirsch AJ, Shenk T. Human cytomegalovirus inhibits transcription of the CC chimiokines MCP-1 gene. J Virol 1999 ; 73 : 404-10.

Humbert M, Delattre RM, Fattal S, Rain B, Cerrina J, Dartevelle P, et al. In situ production of interleukin-6 within human lung allografts displaying rejection or cytomegalovirus pneumonia. Transplantation 1993 ; 56 : 623-7.

Humbert M, Roux-Lombard P, Cerrina J, Magnan A, Simonneau G, Dartevelle P, et al. Soluble TNF receptors (TNF-sR55 and TNF-sR75) in lung allograft recipients displaying cytomegalovirus pneumonitis. Am J Respir Crit Care Med 1994 ; 149 : 1681-5.

Kotenko SV, Saccani S, Izotova LS, Mirochnitchenko OV, Pestka S. Human cytomegalovirus harbors its own unique IL-10 homolog (cmvIL-10). Proc Natl Acad Sci USA 2000 ; 97 : 1695-700.

Michelson S, Alcami J, Kim SJ, Danielpour D, Bachelerie F, Picard L, et al. Human cytomegalovirus infection induces transcription and secretion of transforming growth factor beta 1. J Virol 1994 ; 68 : 5730-7.

Michelson S, Dal Monte P, Zipeto D, Bodaghi B, Laurent L, Oberlin E, et al. Modulation of Rantes production by human cytomegalovirus infection of fibroblasts. J Virol 1997 ; 71 : 6495-500.

Murayama T, Mukaida N, Khabar KS, Matsushima K. Potential involvement of IL-8 in the pathogenesis of human cytomegalovirus infection. J Leukoc Biol 1998 ; 64 : 62-7.

Murayama T, Mukaida N, Sadanari H, Yamaguchi N, Khabar KS, Tanaka J, et al. The immediate early Gene 1 product of human cytomegalovirus is sufficient for up-regulation of interleukin-8 gene expression. Biochem Biophys Res Commun 2000 ; 279 : 298-304.

Penfold ME, Dairaghi DJ, Duke GM, Saederup N, Mocarski ES, Kemble GW, Schall TJ. Cytomegalovirus encodes a potent alpha chimiokines. Proc Natl Acad Sci USA 1999 ; 96 : 9839-44.

Sedger LM, Shows DM, Blanton RA, Peschon JJ, Goodwin RG, Cosman D, Wiley SR. IFN-gamma mediates a novel antiviral activity through dynamic modulation of TRAIL and TRAIL receptor expression. J Immunol 1999 ; 163 : 920-6.

Sedmak DD, Chaiwiriyakul S, Knight DA, Waldmann WJ. The role of interferon beta in human cytomegalovirus-mediated inhibition of HLA DR induction on endothelial cells. Arch Virol 1995 ; 140 : 111-26.

Wara-aswapati N, Yang Z, Waterman WR, Koyama Y, Tetradis S, Choy BK, et al. Cytomegalovirus IE2 protein stimulates interleukin 1beta gene transcription via tethering to Spi-1/PU.1. Mol Cell Biol 1999 ; 19 : 6803-14.

Yamamoto N, Shimokata K, Maeno K, Nishiyama Y. Effect of recombinant human interferon gamma against human cytomegalovirus. Arch Virol 1987 ; 94 : 323-9.

Yurochko AD, Huang ES. Human cytomegalovirus binding to human monocytes induces immunoregulatory gene expression. J Immunol 1999 ; 162 : 4806-16.

ARN messagers et protéines virales inclus dans la particule virale

Bresnahan WA, Shenk T. A subset of viral transcripts packaged within human cytomegalovirus particles. Science 2000 ; 288 : 2373-6.

Greijer AE, Dekkers CA, Middeldorp JM. Human cytomegalovirus virions differentially incorporate viral and host cell RNA during the assembly process. J Virol 2000 ; 74 : 9078-82.

Huang ES, Johnson RA. Human cytomegalovirus – no longer just a DNA virus. Nat Med 2000 ; 6 : 863-4.

Mar EC, Patel PC, Huang ES. Human cytomegalovirus-associated DNA polymerase and protein kinase activities. J Gen Virol 1981 ; 57 : 149-56.

Michelson S, Turowski P, Picard L, Goris J, Landini MP, Topilko A, et al. Human cytomegalovirus carries serine/threonine protein phosphatases PP1 and a host-cell derived PP2A. J Virol 1996 ; 70 : 1415-23.

Spear GT, Lurain NS, Parker CJ, Ghassemi M, Payne GH, Saifuddin M. Host cell-derived complement control proteins CD55 and CD59 are incorporated into the virions of two unrelated enveloped viruses. Human T cell leukemia/lymphoma virus type I (HTLV-I) and human cytomegalovirus (HCMV). J Immunol 1995 ; 155 : 4376-81.

Induction et régulation de facteurs de transcription

Boyle KA, Pietropaolo RL, Compton T. Engagement of the cellular receptor for glycoprotein B of human cytomegalovirus activates the interferon-responsive pathway. Mol Cell Biol 1999 ; 19 : 3607-130.

Yurochko AD, Hwang ES, Rasmussen L, Keay S, Pereira L, Huang ES. The human cytomegalovirus UL55 (gB) and UL75 (gH) glycoprotein ligands initiate the rapid activation of Sp1 and NF-kappaB during infection. J Virol 1997 ; 71 : 5051-9.

Zhu H, Cong JP, Mamtora G, Gingeras T, Shenk T. Cellular gene expression altered by human cytomegalovirus : global monitoring with oligonucleotide arrays. Proc Natl Acad Sci USA 1998 ; 95 : 14470-5.

Apoptose

Arrode G, Boccaccio C, Lulé J, Allart S, Moinard N, Abastado JP, et al. Incoming human cytomegalovirus pp65 (UL83) contained in apoptotic infected fibroblasts is cross-presented to CD8+ T cells by dendritic cells. J Virol, 2000, 74 : 10018-24.

Benedict CA, Butrovich KD, Lurain NS, Corbeil J, Rooney I, Schneider P, et al. Cutting edge : a novel viral TNF receptor superfamily member in virulent strains of human cytomegalovirus. J Immunol 1999 ; 162 : 6967-70.

Chaudhuri AR, St Jeor S, Maciejewski JP. Apoptosis induced by human cytomegalovirus infection can be enhanced by cytokines to limit the spread of virus. Exp Hematol 1999 ; 27 : 1194-203.

Goldmacher VS, Bartle LM, Skaletskaya A, Dionne CA, Kedersha NL, Vater CA, et al. A cytomegalovirus-encoded mitochondria-localized inhibitor of apoptosis structurally unrelated to Bcl-2. Proc Natl Acad Sci USA 1999 ; 96 : 12536-41.

Kovacs A, Weber ML, Burns LJ, Jacob HS, Vercellotti GM. Cytoplasmic sequestration of p53 in cytomegalovirus-infected human endothelial cells. Am J Pathol 1996 ; 149 : 1531-9.

Speir E, Modali R, Huang ES, Leon MB, Shawl F, Finkel T, Epstein SE. Potential role of human cytomegalovirus and p53 interaction in coronary restenosis. Science 1994 ; 265 : 391-4.

Wang J, Marker PH, Belcher JD, Wilcken DE, Burns LJ, Vercellotti GM, Wang XL. Human cytomegalovirus immediate early proteins upregulate endothelial p53 function. FEBS Lett 2000 ; 474 : 213-6.

Zhu H, Shen Y, Shenk T. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins block apoptosis. J Virol 1995 ; 69 : 7960-70.

Cycle cellulaire

Fortunato EA, Spector DH. p53 and RPA are sequestered in viral replication centers in the nuclei of cells infected with human cytomegalovirus. J Virol 1998 ; 72 : 2033-9.

Lu M, Shenk T. Human cytomegalovirus UL69 protein induces cells to accumulate in G1 phase of the cell cycle. J Virol 1999 ; 73 : 676-83.

Tropisme

Récepteurs

Kari B, Gehrz R. Structure, composition and heparin binding properties of a human cytomegalovirus glycoprotein complex designated gC-II. J Gen Virol 1993 ; 74 : 255-64.

Pietropaolo R, Compton T. Interference with annexin II has no effect on entry of human cytomegalovirus into fibroblast cells. J Gen Virol 1999 ; 80 : 1807-16.

Cellules cibles

Bacsi A, Aranyosi J, Beck Z, Ebbesen P, Andirko I, Szabo J, et al. Placental macrophage contact potentiates the complete replicative cycle of human cytomegalovirus in syncytiotrophoblast cells : role of interleukin-8 and transforming growth factor-beta1. J Interferon Cytokine Res 1999 ; 19 : 1153-60.

Bodaghi B, Slobbe-van Drunen ME, Topilko A, Perret E, Vossen RC, van Dam-Mieras MC, et al. Entry of human cytomegalovirus into retinal pigment epithelial and endothelial cells by endocytosis. Invest Ophthalmol Vis Sci 1999 ; 40 : 2598-607.

Cha TA, Tom E, Kemble GW, Duke GM, Mocarski ES, Spaete RR. Human cytomegalovirus clinical isolates carry at least 19 genes not found in laboratory strains. J Virol 1996 ; 70 : 78-83.

Fish KN, Depto AS, Moses AV, Britt W, Nelson JA. Growth kinetics of human cytomegalovirus are altered in monocyte-derived macrophages. J Virol 1995 ; 69 : 3737-43.

Fish KN, Britt W, Nelson JA. A novel mechanism for persistence of human cytomegalovirus in macrophages. J Virol 1996 ; 70 : 1855-62.

Fish KN, Soderberg-Naucler C, Mills LK, Stenglein S, Nelson JA. Human cytomegalovirus persistently infects aortic endothelial cells. J Virol 1998 ; 72 : 5661-8.

Fisher S, Genbacev O, Maidji E, Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero : implications for transmission and pathogenesis. J Virol 2000 ; 74 : 6808-20.

Halwachs-Baumann G, Wilders-Truschnig M, Desoye G, Hahn T, Kiesel L, Klingel K, et al. Human trophoblast cells are permissive to the complete replicative cycle of human cytomegalovirus. J Virol 1998 ; 72 : 7598-602.

Kahl M, Siegel-Axel D, Stenglein S, Jahn G, Sinzger C. Efficient lytic infection of human arterial endothelial cells by human cytomegalovirus strains. J Virol 2000 ; 74 : 7628-35.

Kondo K, Kaneshima H, Mocarski ES. Human cytomegalovirus latent infection of granulocyte-macrophage progenitors. Proc Natl Acad Sci USA 1994 ; 91 : 11879-83.

Movassagh M, Gozlan J, Senechal B, Baillou C, Petit JC, Lemoine FM. Direct infection of CD34+ progenitor cells by human cytomegalovirus : evidence for inhibition of hematopoiesis and viral replication. Blood 1996 ; 88 : 1277-83.

Muhlemann K, Miller RK, Metlay L, Menegus MA. Cytomegalovirus infection of the human placenta : an immunocytochemical study. Hum Pathol 1992 ; 23 : 1234-7.

Roullet E. Opportunistic infections of the central nervous system during HIV-1 infection (emphasis on cytomegalovirus disease). J Neurol 1999 ; 246 : 237-43.

Sinzger C, Jahn G. Human cytomegalovirus cell tropism and pathogenesis. Intervirology 1996 ; 39 : 302-19.

Sinzger C, Bissinger AL, Viebahn R, Oettle H, Radke C, Schmidt CA, Jahn G. Hepatocytes are permissive for human cytomegalovirus infection in human liver cell culture and in vivo. J Infect Dis 1999 ; 180 : 976-86.

Sinzger C, Schmidt K, Knapp J, Kahl M, Beck R, Waldman J, et al. Modification of human cytomegalovirus tropism through propagation in vitro is associated with changes in the viral genome. J Gen Virol 1999 ; 80 : 2867-77.

Sinzger C, Kahl M, Laib K, Klingel K, Rieger P, Plachter B, Jahn G. Tropism of human cytomegalovirus for endothelial cells is determined by a post-entry step dependent on efficient translocation to the nucleus. J Gen Virol 2000 ; 81 : 3021-35.

Topilko A, Michelson S. Hyperimmediate entry of human cytomegalovirus virions and dense bodies into human fibroblasts. Res Virol 1994 ; 145 : 75-82.

Latence et réactivation

Bolovan-Fritts CA, Mocarski ES, Wiedeman JA. Peripheral blood CD1 (+) cells from healthy subjects carry a circular conformation of latent cytomegalovirus genome. Blood 1999 ; 93 : 394-8.

Kondo K, Xu J, Mocarski ES. Human cytomegalovirus latent gene expression in granulocyte-macrophage progenitors in culture and in seropositive individuals. Proc Natl Acad Sci USA 1996 ; 93 : 11137-42.

Soderberg-Naucler C, Fish KN, Nelson JA. Reactivation of latent human cytomegalovirus by allogeneic stimulation of blood cells from healthy donors. Cell 1997 ; 91 : 119-26.

Soderberg-Naucler C, Streblow DN, Fish KN, Allan-Yorke J, Smith PP, Nelson JA. Reactivation of latent human cytomegalovirus in CD1 (+) monocytes is differentiation dependent. J Virol 2001 ; 75 : 7543-54.

Taylor-Wiedeman J, Sissons P, Sinclair J. Induction of endogenous human cytomegalovirus gene expression after differentiation of monocytes from healthy carriers. J Virol 1994 ; 68 : 1597-604.

Dissémination virale

Gerna G, Percivalle E, Baldanti F, Sozzani S, Lanzarini P, Genini E, et al. Human cytomegalovirus replicates abortively in polymorphonuclear leukocytes after transfer from infected endothelial cells via transient microfusion events. J Virol 2000 ; 74 : 5629-38.

Maidji E, Tugizov S, Abenes G, Jones T, Pereira L. A novel human cytomegalovirus glycoprotein, gpUS9, which promotes cell-to-cell spread in polarized epithelial cells, colocalizes with the cytoskeletal proteins E-cadherin and F-actin. J Virol 1998 ; 72 : 5717-27.

Waldman WJ, Knight DA, Huang EH, Sedmak DD. Bidirectional transmission of infectious cytomegalovirus between monocytes and vascular endothelial cells : an in vitro model. J Infect Dis 1995 ; 171 : 263-72.

Transplantation

Greffe de moelle

Barry SM, Johnson MA, Janossy G. Cytopathology or immunopathology ? The puzzle of cytomegalovirus pneumonitis revisited. Bone Marrow Transplant 2000 ; 26 : 591-7.

Einsele H, Ehninger G, Steidle M, Fischer I, Bihler S, Gerneth F, et al. Lymphocytopenia as an unfavorable prognostic factor in patients with cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation. Blood 1993 ; 82 : 1672-8.

Fries BC, Khaira D, Pepe MS, Torok-Storb B. Declining lymphocyte counts following cytomegalovirus (CMV) infection are associated with fatal CMV disease in bone marrow transplant patients. Exp Hematol 1993 ; 21 : 1387-92.

Grundy JE, Shanley JD, Griffiths PD. Is cytomegalovirus interstitial pneumonitis in transplant recipients an immunopathological condition ? Lancet 1987 ; 31 : 996-9.

Podlech J, Holtappels R, Pahl-Seibert MF, Steffens HP, Reddehase MJ. Murine model of interstitial cytomegalovirus pneumonia in syngeneic bone marrow transplantation : persistence of protective pulmonary CD8-T-cell infiltrates after clearance of acute infection. J Virol 2000 ; 74 : 7496-507.

Stocchi R, Ward KN, Fanin R, Baccarani M, Apperley JF. Management of human cytomegalovirus infection and disease after allogeneic bone marrow transplantation. Haematologica 1999 ; 84 : 71-9.

Transplantation d'organe

Borchers AT, Perez R, Kaysen G, Ansari AA, Gershwin ME. Role of cytomegalovirus infection in allograft rejection : a review of possible mechanisms. Transpl Immunol 1999 ; 7 : 75-82.

Britt WJ, Alford CA. Cytomegalovirus. In : Fields BN et al, Eds. Fields Virology. 3rd ed. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers ; 1996.

Grattan MT, Moreno-Cabral CE, Starnes VA, Oyer PE, Stinson EB, Shumway NE. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. JAMA 1989 ; 261 : 3561-6.

Koskinen PK, Nieminen MS, Krogerus LA, Lemstrom KB, Mattila SP, Hayry PJ, Lautenschlager IT. Cytomegalovirus infection and accelerated cardiac allograft vasculopathy in human cardiac allografts. J Heart Lung Transplant 1993 ; 12 : 724-9.

Loebe M, Schuler S, Zais O, Warnecke H, Fleck E, Hetzer R. Role of cytomegalovirus infection in the development of coronary artery disease in the transplanted heart. J Heart Transplant 1990 ; 9 : 707-11.

McDonald K, Rector TS, Braulin EA, Kubo SH, Olivari MT. Association of coronary artery disease in cardiac transplant recipients with cytomegalovirus infection. Am J Cardiol 1989 ; 64 : 359-62.

von Willebrand E, Pettersson E, Ahonen J, Hayry P. CMV infection, class II antigen expression, and human kidney allograft rejection. Transplantation 1986 ; 42 : 364-7.

Yilmaz S, Koskinen PK, Kallio E, Bruggeman CA, Hayry PJ, Lemstrom KB. Cytomegalovirus infection-enhanced chronic kidney allograft rejection is linked with intercellular adhesion molecule-1 expression. Kidney Int 1996 ; 50 : 526-37.

Zhou YF, Yu ZX, Wanishsawad C, Shou M, Epstein SE. The immediate early gene products of human cytomegalovirus increase vascular smooth muscle cell migration, proliferation, and expression of PDGF beta-receptor. Biochem Biophys Res Commun 1999 ; 256 : 608-13.

Athérosclérose

Adam E, Melnick JL, Probtsfield JL, Petrie BL, Burek J, Bailey KR, et al. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. Lancet 1987 ; 8554 : 291-3.

Bruggeman CA, Marjorie HJ, Nelissen-Vrancken G. Cytomegalovirus and atherogenesis. Antiviral Res 1999 ; 43 : 191-200.

Fabricant CG, Fabricant J. Atherosclerosis induced by infection with Marek's disease herpesvirus in chickens. Am Heart J 1999 ; 138 : S465-8.

Lemstrom KB, Bruning JH, Bruggeman CA, Lautenschlager IT, Hayry PJ. Cytomegalovirus infection enhances smooth muscle cell proliferation and intimal thickening of rat aortic allografts. J Clin Invest 1993 ; 92 : 549-58.

Melnick JL, Petrie BL, Dreesman GR, Burek J, McCollum CH, DeBakey ME. Cytomegalovirus antigen within human arterial smooth muscle cells. Lancet 1983 ; 2 : 644-7.

Pampou SYu, Gnedoy SN, Bystrevskaya VB, Smirnov VN, Chazov EI, Melnick JL, DeBakey ME. Cytomegalovirus genome and the immediate-early antigen in cells of different layers of human aorta.Virchows Arch 2000 ; 436 : 539-52.

Shibutani T, Johnson TM, Yu ZX, Ferrans VJ, Moss J, Epstein SE. Pertussis toxin-sensitive G proteins as mediators of the signal transduction pathways activated by cytomegalovirus infection of smooth muscle cells. J Clin Invest 1997 ; 100 : 2054-61.

Speir E, Yu ZX, Ferrans VJ, Huang ES, Epstein SE. Aspirin attenuates cytomegalovirus infectivity and gene expression mediated by cyclooxygenase-2 in coronary artery smooth muscle cells. Circ Res 1998 ; 83 : 210-6.

Speir E. Cytomegalovirus gene regulation by reactive oxygen species. Agents in atherosclerosis. Ann NY Acad Sci 2000 ; 899 : 363-74.

Streblow DN, Soderberg-Naucler C, Vieira J, Smith P, Wakabayashi E, Ruchti F, et al. The human cytomegalovirus chimiokines receptor US28 mediates vascular smooth muscle cell migration. Cell 1999 ; 99 : 511-20.

Zhou YF, Leon MB, Waclawiw MA, Popma JJ, Yu ZX, Finkel T, Epstein SE. Association between prior cytomegalovirus infection and the risk of restenosis after coronary atherectomy. N Engl J Med 1996 ; 335 : 624-30.

Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Csako G, Epstein SE. Cytomegalovirus in the pathogenesis of atherosclerosis : the role of inflammation as reflected by elevated C-reactive protein levels. J Am Coll Cardiol 1999 ; 15 ; 1738-43.

Épidémiologie des infections à cytomégalovirus

Berthe-Marie Imbert

- Prévalence des infections
- Réservoir
- Modes de transmission

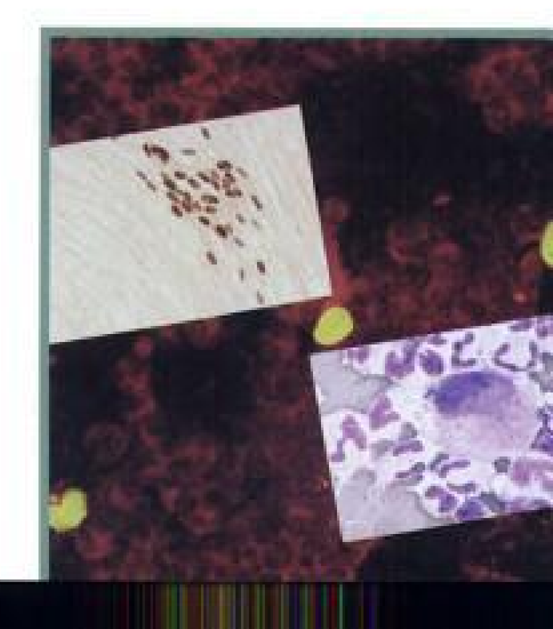


Tableau 1. Définitions de différents abords physiopathologiques de l'infection à CMV.

Infection	Présence du virus dans l'organisme, sous forme latente ou active
Excrétion	Présence du virus dans les liquides biologiques
Infection active	Présence du virus dans le sang périphérique (au cours de la primo-infection ou de réactivations)
Maladie	Atteinte tissulaire symptomatique au cours d'une infection active
Primo-infection	Premier contact avec le virus
Latence	Présence du virus aréplicatif limité à des sites particuliers (notamment monocytes)
Réinfection	Infection par une souche virale différente
Réactivation	Infection active survenant après une période de latence virale

L'infection à cytomégalovirus humain (CMV) est endémique, présente dans le monde entier, et évolue sans influence saisonnière. Les populations à faible niveau socio-économique sont plus fréquemment contaminées, avec des séroprévalences atteignant plus de 90 %. Le virus peut être transmis par de nombreuses voies, horizontales ou verticales (ce dernier point sera détaillé dans le chapitre des infections maternofœtales).

L'infection à CMV peut revêtir plusieurs aspects, qui correspondent à des caractéristiques physiopathologiques différentes *(tableau 1)*. Les données épidémiologiques disponibles dans la littérature peuvent donc concerner une partie ou totalité de ces différentes entités et il est parfois difficile de comparer les données entre elles, en particulier pour l'estimation de la fréquence des infections actives et des maladies à CMV : elle varie notamment en fonction de la sensibilité des techniques utilisées, du marqueur virologique étudié et des critères clinicobiologiques pris en compte pour le diagnostic de l'atteinte symptomatique.

1. Prévalence des infections

1.1. Séroprévalence

Dans la population générale, la séroprévalence, évaluée par la recherche des immunoglobulines G (IgG) dirigées spécifiquement contre certains épitopes du virus, varie en fonction de l'âge, du pays considéré et du niveau socio-économique *(figure 1)*. Elle permet de « comptabiliser » les sujets porteurs du virus, sans préjuger de l'existence ou non d'une infection active.

En fonction de la nature du test sérologique utilisé, les prévalences peuvent varier légèrement. À l'aide de techniques sensibles, immuno-enzymologiques par exemple, il a été montré que plus de 90 % des adultes vivant dans les pays en

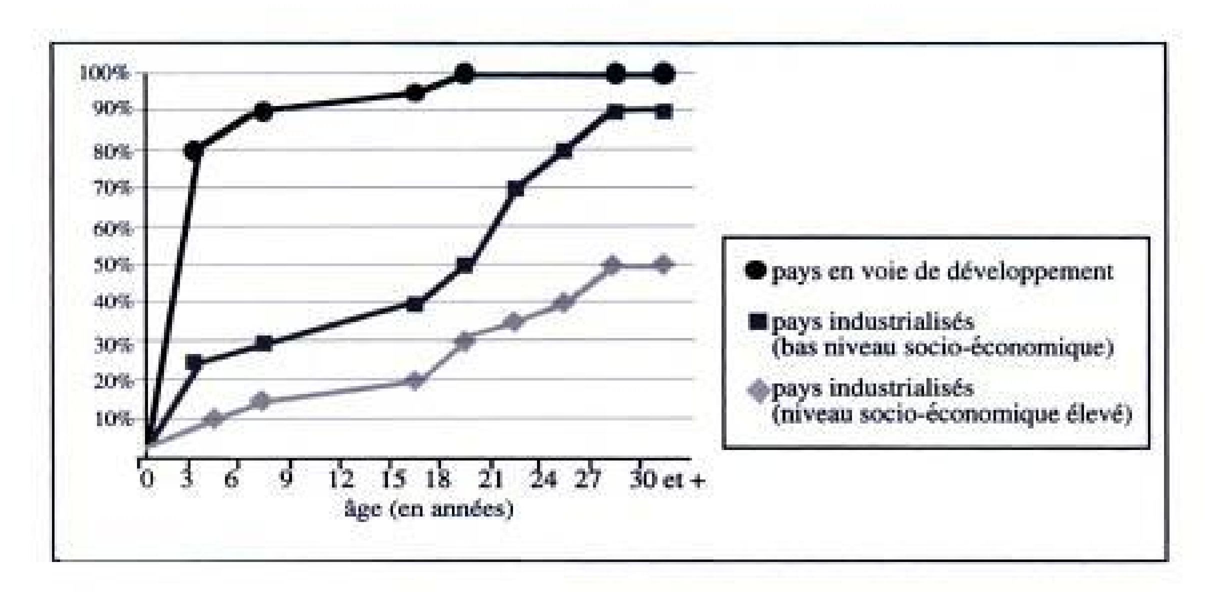


Figure 1. Séroprévalence en fonction de l'âge et de la géographie.

voie de développement, en particulier en Afrique et en Asie du Sud-Est sont infectés. Dans les pays industrialisés, la séroprévalence varie de 40 à 80 %. De fortes prévalences sont observées chez les sujets à faibles conditions socio-économiques, pour des raisons imparfaitement connues : ont été évoquées une hygiène moins rigoureuse et surtout une forte promiscuité et/ou des différences dans les comportements sexuels. Des études menées en Amérique du Nord ont montré des taux de contamination plus élevés chez les sujets noirs et amérindiens, sans qu'aucune donnée n'ait permis de les associer à un terrain génétique particulier.

Certaines populations des pays industrialisés sont davantage exposées au virus : c'est le cas des sujets polytransfusés et/ou receveurs de greffe d'organes et des sujets à partenaires sexuels multiples. Chez ces patients, la séroprévalence est généralement supérieure à 75 %.

Enfin, il faut noter que des données récentes suggèrent que la recherche des IgG pour le dépistage des sujets contaminés par le virus pourrait être défaillante dans certaines circonstances. Il a en effet été démontré l'existence d'une réponse immunitaire cellulaire T chez quelques sujets séronégatifs vis-à-vis du CMV, posant la question d'une éventuelle absence de réponse sérologique chez certains sujets infectés.

1.2. Fréquence des infections actives et des maladies

Elle est surtout connue pour les sujets immunodéprimés, chez lesquels, en raison de la gravité potentielle des atteintes tissulaires, de très nombreuses études ont été conduites. Le CMV représente, chez ces patients, une des premières causes de complications infectieuses.

Même si de larges variations sont observées entre les différentes évaluations *(tableau 2)*, l'intensité de l'immunodépression est un critère prépondérant pour expliquer les hauts risques de survenue d'infection active chez les patients atteints

Tableau 2. Incidence des infections actives et maladies à CMV en fonction du contexte d'immunosuppression (en l'absence de chimioprophylaxie anti-CMV) chez les séropositifs et/ou receveurs d'un transplant séropositif.

Contexte	Infections actives*	Maladies
Transplantations d'organes solides :		
cœur	25-70 %	9-35 %
foie	20-59 %	22-29 %
rein	30-75 %	8-32 %
Greffes de moelle :		
allogreffes	30-60 %	20-35 %
autogreffes	< 10 %	< 5 %
Sida**		
> 100 CD4	< 10/1 000 personnes-année	
50-100 CD4	20-40/1 000 personnes-année	
< 50 CD4	100-200/1 000 personnes-année	

*Limitées à la mise en évidence du virus, de ses antigènes ou de son génome dans le sang périphérique.
**Données françaises concernant le risque de développer un premier épisode de maladie à CMV (Inserm SC4 et groupe d'épidémiologie clinique des CISIH).

de sida en phase terminale ou chez les receveurs d'allogreffe soumis à des protocoles thérapeutiques immunosuppresseurs (administration de sérum antilymphocytaire en particulier). Chez les transplantés, d'autres facteurs de risque ont été clairement identifiés, telle la survenue d'épisodes de rejet du greffon solide ou de maladie du greffon contre l'hôte. Dans ces deux cas, la réaction allogénique joue un rôle direct en induisant la réactivation du virus et exerce une influence indirecte en nécessitant un accroissement des doses d'immunosuppresseurs.

Dans le contexte des primo-infections (cas des patients séronégatifs avant la greffe qui reçoivent un organe provenant d'un donneur séropositif), le taux d'infection active peut atteindre 80 %, avec un risque d'atteinte tissulaire très élevé. Notons que chez les receveurs de cellules souches hématopoïétiques, c'est la séropositivité du receveur et non celle du donneur qui représente un facteur de risque de développement d'une maladie à CMV.

L'épidémiologie des infections à CMV est en évolution depuis quelques années, à la fois chez les sujets transplantés et chez les patients infectés par le VIH. Chez les greffés, la systématisation de l'administration de ganciclovir ou de valaciclovir à titre prophylactique devrait conduire, si on extrapole les quelques données récentes de la littérature, à une diminution d'au moins 50 % de la fréquence des infections actives et des maladies. Elle est également associée à une modification de la cinétique de survenue de l'infection active, traditionnellement observée au cours des 2ᵉ et 3ᵉ mois suivant la greffe. Chez les sujets sous chimioprophylaxie, les épisodes surviennent après l'arrêt du traitement, c'est-à-dire, en fonction des protocoles actuellement appliqués, à partir du 4ᵉ mois après la transplantation. Chez les sujets infectés par le VIH, l'introduction des multithérapies antirétrovirales en 1996 a eu pour conséquence une diminution drastique des cas d'infection à CMV, imputable en grande partie à la restauration immunitaire induite par ces protocoles thérapeutiques.

2. Réservoir

Le cytomégalovirus humain est hautement spécifique d'espèce et très fragile, ne conservant pas son pouvoir infectieux dans le milieu extérieur : pour ces raisons, le réservoir est strictement humain, représenté par les individus infectés, qu'ils soient symptomatiques ou non. Les sources peuvent être représentées non seulement par les particules infectieuses mais également par le virus en état de latence.

De par son vaste tropisme tissulaire et cellulaire in vivo, le virus peut être retrouvé sous forme latente ou infectieuse dans de nombreux organes, et, au cours des infections actives, dans la plupart des liquides biologiques, en particulier dans la salive, les urines, les sécrétions génitales et le lait maternel. Le sang représente également une des sources virales car ce virus est présent à l'état latent dans les monocytes du sang périphérique et dans les polynucléaires au cours des infections actives. La moelle osseuse est également vectrice du virus.

Certains sujets sont hautement contaminateurs car ils excrètent le virus en grande quantité et/ou sur des périodes prolongées. C'est notamment le cas des sujets dont la primo-infection est récente ou qui souffrent de déficits de l'immunité. Ainsi, une des principales sources du virus est représentée par les enfants infectés in utero, chez lesquels le virus est excrété en grandes quantités, dans les urines et la salive notamment, pendant les toutes premières années de la vie. Les sujets immunodéprimés, en raison de leur capacité diminuée à juguler les infections actives, excrètent fréquemment le virus. Certaines études rapportent des taux d'excrétion proches de 100 % chez les sujets infectés receveurs d'organes solides, dans les trois premiers mois suivant la transplantation. Chez les sujets infectés par le VIH et séropositifs vis-à-vis du CMV, des taux similaires sont atteints, en particulier lorsque le nombre de lymphocytes T $CD4^+$ est inférieur à 50 cellules/mm^3. Cette excrétion dans les liquides biologiques peut être associée à la présence du virus dans les leucocytes périphériques, ce qui définit l'infection active proprement dite. L'excrétion est d'autant plus intense que le sujet a une forte charge virale sanguine et/ou des signes cliniques d'atteinte tissulaire.

Enfin, les sujets adultes immunocompétents sont également susceptibles de transmettre le virus, au moment de la primo-infection ou au décours de périodes de réactivation asymptomatique. L'excrétion urinaire ou salivaire dans cette population semble assez faible (environ 1 à 3 % des sujets séropositifs). Elle est plus fréquente au niveau des sécrétions génitales : des données récentes obtenues chez des sujets en attente de procréation médicale assistée évaluent à 25 à 35 % la proportion d'individus excréteurs du virus dans le sperme ou les sécrétions cervicogénitales. Ces pourcentages d'excrétion virale dans le sperme ne sont pas retrouvés dans toutes les études, notamment chez les donneurs de gamètes. Enfin, environ un tiers des femmes séropositives excrètent le virus dans le lait maternel, en particulier entre le 2e et le 4e mois suivant l'accouchement.

3. Modes de transmission

La transmission du virus se fait nécessairement par contact direct et n'est pas systématique, comme en témoigne l'existence de couples discordants au niveau

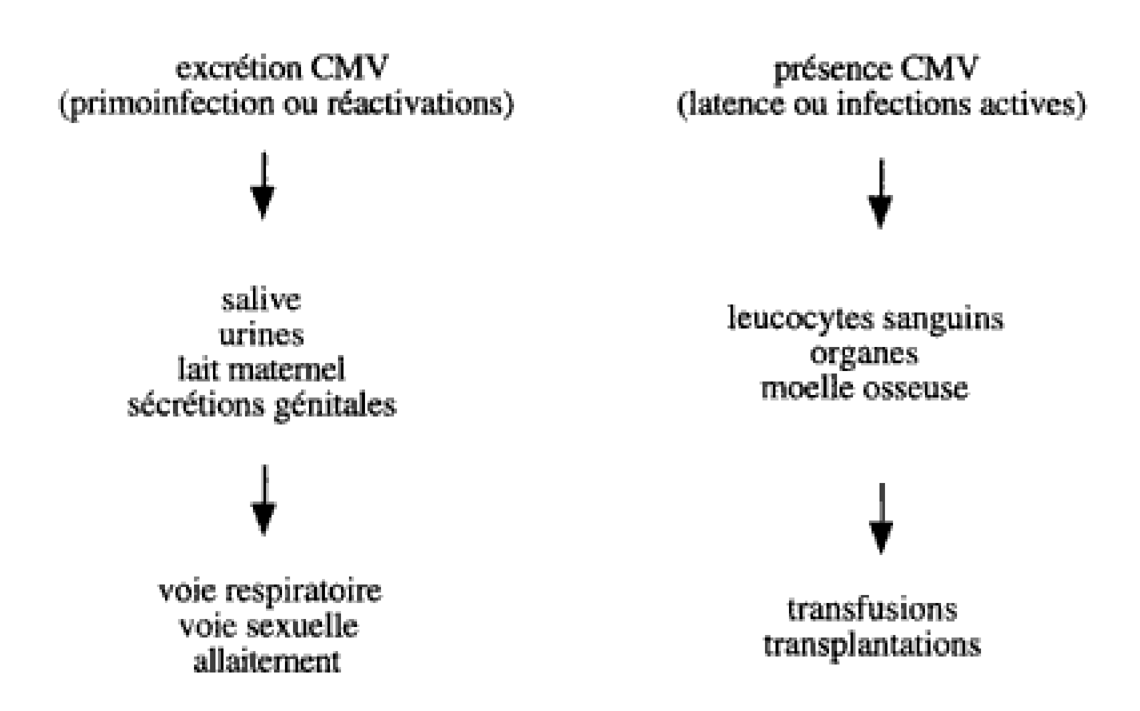


Figure 2. Principaux modes de transmission du CMV (hors infections congénitales).

sérologique. Elle requiert des doses infectieuses importantes ou la présence de brèches dans l'épithélium.
Plusieurs voies de contamination sont possibles. Certaines prédominent en fonction du contexte d'acquisition du virus *(figure 2)*.

3.1. Infections communautaires

La transmission horizontale « naturelle » du virus emprunte deux voies majeures :
– la contamination par voie aérienne se fait par l'intermédiaire des gouttelettes de Pflügge. Il est nécessaire que le sujet source soit hautement excréteur du virus et que les contacts soient rapprochés. Ce mode explique la transmission du virus au sein des collectivités, d'enfants notamment, ou la transmission intrafamiliale ;
– la transmission par voie sexuelle prédomine chez les adolescents et les adultes. Elle est favorisée par la présence de microtraumatismes.
La contamination des sujets se fait plus particulièrement au cours de deux périodes distinctes de la vie :
– un premier pic de contamination est observé au cours des premières années de la vie. L'acquisition de l'infection in utero, au cours du passage de la filière génitale ou par le lait maternel, est très fréquente. Le virus est excrété dans la filière génitale en fin de grossesse chez 15 à 34 % des mères et 50 % des enfants ainsi exposés s'infectent. Dans les pays en voie de développement, la plupart des enfants sont contaminés au cours de cette période, avec une séroprévalence qui peut atteindre 90 % à 2 ans. Dans les pays industrialisés, l'entrée en collectivité, au sein des crèches notamment, est également associée à ce premier pic. Les taux de séroconversions dans ce contexte sont difficilement évaluables, mais quelques études ont rapporté un risque de contamination trois à quatre fois plus élevé chez les enfants vivant en collectivité ;

Tableau 3. Sources virales prédominantes et facteurs de risque d'acquisition chez les adultes.

Contexte d'acquisition	Facteurs de risque
Infections communautaires :	
contact avec les jeunes enfants	enfants < 24 mois, collectivités
voie sexuelle	sexe féminin, partenaires sexuels multiples, antécédents d'autres MST, rapports non protégés, homosexualité masculine
Infections nosocomiales :	
dons d'organes	donneur séropositif
transfusions sanguines	sang non screené ou non déleucocyté, transfusions répétées

– entre 3 et 15 ans, les cas de séroconversion sont faibles, associés généralement à des contaminations au sein de la famille ;
– le début de la vie sexuelle active est associé au deuxième pic de contamination dans les pays industrialisés, comme en témoigne l'accroissement du taux de séroconversion entre 16 et 25 ans. La réalité de ce mode de transmission sexuel est confortée par l'observation de séroprévalence accrue chez les sujets homosexuels masculins ou chez les individus hétérosexuels ayant de nombreux partenaires ou présentant d'autres MST *(tableau 3)*.

Enfin, certaines activités professionnelles sont soumises à un risque accru de contamination : c'est en particulier le cas pour les personnes s'occupant de jeunes enfants (gardes d'enfants, personnel des crèches ou travaillant dans les services de pédiatrie). Quelques études ont rapporté un discret accroissement du risque de contamination chez le personnel soignant prenant en charge des sujets immunodéprimés, risque qui semble rester mineur.

3.2. Infections nosocomiales

Le risque de transmission du virus par transfusion sanguine est assez difficile à évaluer dans la population générale, en raison de l'absence d'un suivi post-transfusionnel systématique. Quelques études ont rapporté un risque de contamination compris entre 0,5 % et 2,5 % par unité de sang transfusé. Seuls les produits sanguins qui contiennent des leucocytes peuvent transmettre le virus. Le CMV est ainsi responsable des trois quarts des syndromes mononucléosiques post-transfusionnels. Ce risque est mieux connu chez des populations très exposées telles que les sujets atteints de maladies hématologiques. Ainsi, chez les receveurs de greffe de moelle, polytransfusés, l'incidence de la contamination était comprise entre 28 et 57 %. L'administration de sang déleucocyté (réduction de 3 log10 du nombre de leucocytes permettant d'atteindre un nombre résiduel moyen de 10^5 et même 10^4 leucocytes par produit) ou provenant de donneurs séronégatifs vis-à-vis du CMV constitue deux stratégies maintenant largement utilisées pour réduire ce risque : les incidences de contamination sont à des niveaux comparables, compris entre 1,4 % et 2,4 %. La filtration des produits sanguins labiles est désormais systématique en France. Chez les transfusés particulièrement à risque de complication grave de l'infection à CMV, on associe à ce traitement

la sélection de produits provenant de donneurs de sang séronégatifs vis-à-vis du CMV. La transfusion favorise également les infections secondaires par la réactivation du génome endogène à l'occasion de la stimulation allogénique qu'elle induit. La déleucocytation systématique a aussi l'avantage de limiter le développement de ces infections.

La possibilité d'acquérir le virus au cours d'une greffe d'organe solide a été reconnue assez rapidement après les débuts de la transplantation. La très grande fréquence de survenue d'une infection active chez les sujets séronégatifs avant la greffe et receveurs d'un organe d'un donneur séropositif illustre bien ce point. Ainsi, plus de 90 % des sujets sont contaminés (primo-infection ou réinfection) par le greffon d'un donneur séropositif, la contamination par transfusion concernant moins de 10 % des receveurs, sauf chez les sujets polytransfusés, en transplantation thoracique notamment.

La transmission entre patients hospitalisés dans la même unité semble exceptionnelle. Deux études ont rapporté la transmission au cours d'hospitalisation prolongée chez de jeunes enfants placés dans une même unité de soin et pris en charge par le même personnel, ce qui suggère une transmission manuportée. La fragilité du virus et sa sensibilité aux détergents et désinfectants explique l'efficacité des mesures d'hygiène simple pour prévenir ce mode de transmission.

Pour en savoir plus

Boeckh M, Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. Clin Microbiol Rev 1998 ; 11 : 533-54.

Bowden RA, Slichter SJ, Sayers M, et al. A comparison of filtered leukocyte-reduced and Cytomegalovirus seronegative blood products for the prevention of transfusion associated CMV infection after marrow transplantation. Blood 1995 ; 86 : 3598-603.

Britt WJ, Alford CA. Cytomegalovirus. In : Fields BN, Knipe DM, Eds. Fields Virology. 3rd ed. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers ; 1996.

Mayaud C, Parrot A, Cadranel J. Cytomégalovirus : clinique chez l'immunodéprimé. In : Maréchal V, Segondy M, Nicolas JC, Eds. Les herpèsvirus humains. Paris : Elsevier ; 1999.

Meyohas MC. Cytomégalovirus : expressions cliniques chez l'immunocompétent. In : Maréchal V, Segondy M, Nicolas JC, Eds. Les herpèsvirus humains. Paris : Elsevier ; 1999.

Patel R, Paya CV. Infections in solid-organ transplant recipients. Clin Microbiol Rev 1997 ; 10 : 86-124.

Ranger-Rogez S, Venot C, Aubard Y, Denis F, Freymuth F. Cytomégalovirus. In : Denis F, Ed. Les virus transmissibles de la mère à l'enfant. Paris : John Libbey Eurotext ; 1999.

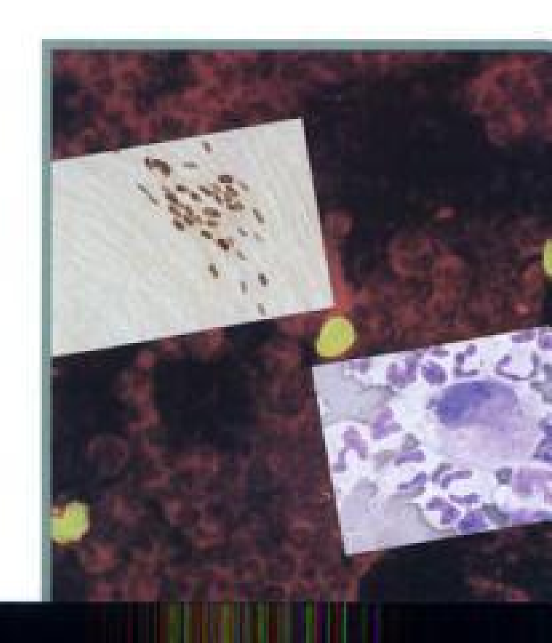
Sia I, Patel R. New strategies for prevention and therapy of cytomegalovirus infection and disease in solid-organ transplant recipients. Clin Microbiol Rev 2000 ; 13 : 83-121.

Yang YS, Ho HN, Chen HF, et al. Cytomegalovirus infection and viral shedding in the genital tract of infertile couples. J Med Virol 1995 ; 45 : 179-82.

Réponse immunitaire au cours de l'infection à cytomégalovirus

Michel Segondy

- Réponse immunitaire à médiation humorale
- Réponse immunitaire à médiation cellulaire



L'infection à cytomégalovirus (CMV) induit une réponse immunitaire qui confère à l'individu un état de protection contre le virus. Cependant, cette réponse immunitaire ne permet pas d'éliminer le virus de l'organisme. Comme les autres virus de la famille des Herpesviridae, le CMV persiste à l'état latent après la primo-infection. Malgré la présence d'une immunité spécifique effective, des réactivations peuvent survenir, provoquant une excrétion virale intermittente dans la salive, les urines et les sécrétions génitales. Le CMV a en effet développé divers mécanismes d'échappement aux réponses immunitaires. Chez l'individu immunocompétent, il se maintient donc une homéostasie hôte–virus caractérisée par un contrôle immunitaire suffisamment puissant pour s'opposer au développement des maladies à CMV. Le CMV parvient malgré tout à échapper suffisamment à la surveillance exercée par le système immunitaire pour maintenir – tout au moins de manière intermittente – un certain niveau de réplication. Chez les individus immunodéprimés, la rupture de cet équilibre se traduit par le développement d'infections à CMV opportunistes ; une récupération même partielle des fonctions immunitaires s'accompagne d'une régression de ces infections opportunistes *(figure 1)*.

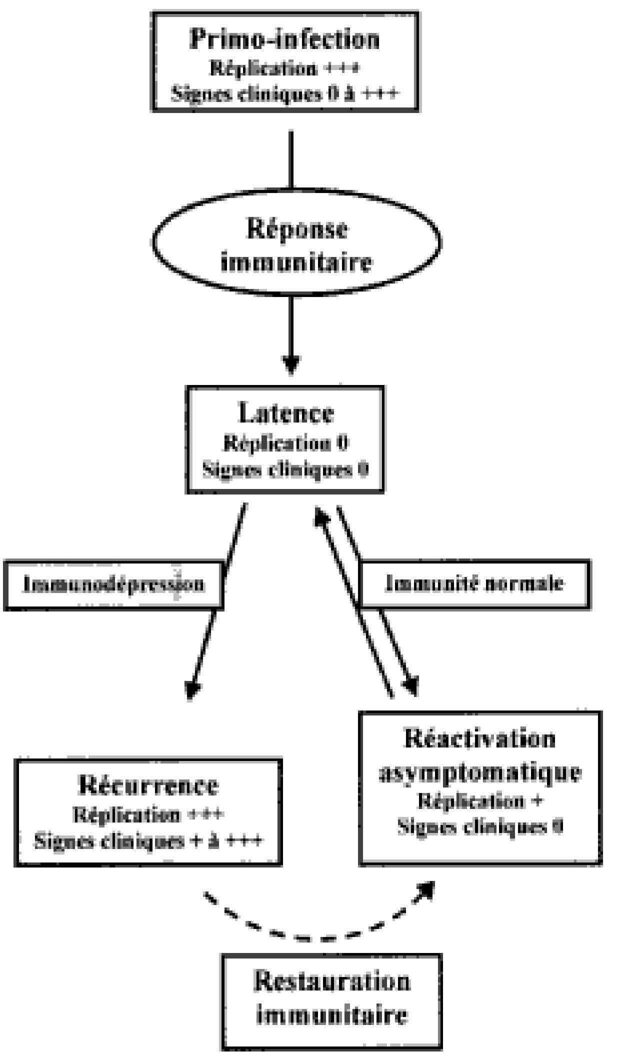


Figure 1. Réponse immunitaire et histoire naturelle de l'infection à CMV.

1. Réponse immunitaire à médiation humorale

1.1. Immunité non spécifique

1.1.1. Interférons α/β

L'infection par le CMV induit la synthèse des interférons α et β qui sont des cytokines impliquées dans la signalisation cellulaire, capables de conférer aux cellules une résistance à l'infection virale *(figure 2)*. Les molécules d'interféron produites par les cellules infectées vont se fixer sur des cellules non infectées, au niveau de récepteurs spécifiques. Le signal induit par la fixation de l'interféron sur son récepteur va conduire à l'activation d'une trentaine de gènes cellulaires normalement réprimés. Trois des protéines induites par les interférons α/β sont plus particulièrement responsables de la résistance de la cellule à l'infection virale :

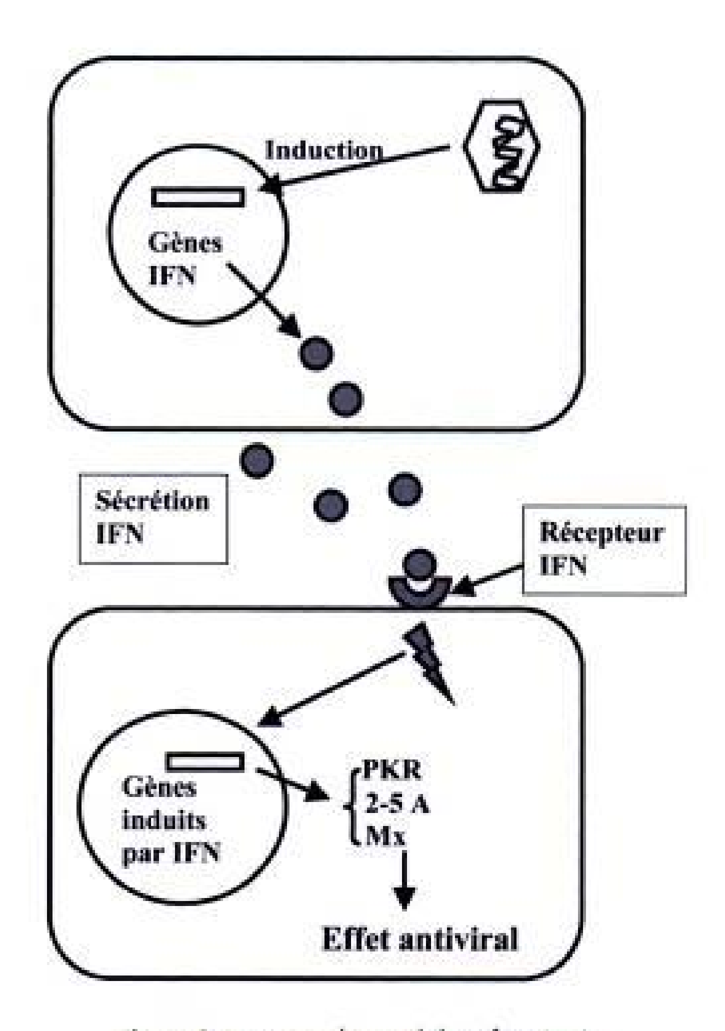


Figure 2. Mécanisme d'action de l'interféron (IFN).

– la protéine kinase dépendante de l'ARN bicaténaire (PKR) a une action inhibitrice sur la synthèse de protéines virales,
– la protéine Mx qui est une GTPase a une action inhibitrice sur la synthèse des ARN viraux,
– la 2'-5' oligo-adénylate synthétase (2-5A) est impliquée dans la dégradation des ARN messagers viraux.

1.1.2. Autres cytokines

L'infection par le CMV modifie la production de certaines cytokines ; ces modifications pourraient être à l'origine de l'immunodépression induite par l'infection à CMV. En effet, le CMV diminue la production d'interleukine (IL)-1 par les cellules endothéliales et active la synthèse par les monocytes d'un antagoniste du récepteur de l'IL-1. Ces actions sur l'IL-1 peuvent expliquer le déficit fonctionnel des lymphocytes T CD4+ associé à l'infection à CMV. Le CMV paraît également diminuer la production d'IL-2 par les lymphocytes T. L'infection à CMV a, semble-t-il, un effet activateur sur la production d'IL-6, d'IL-8 – une CXC chimiokine possédant un pouvoir chimiotactique sur les polynucléaires neutrophiles –, de TNF-α (*tumor necrosis factor* α) et des facteurs de croissance TGF-β (*transforming growth factor* β) et FGF (*fibroblast growth factor*).

1.1.3. Complément

Le système du complément, après activation, est capable de lyser des cellules infectées ou des particules virales. Le complément intervient également dans le pouvoir de neutralisation des anticorps anti-CMV. La voie classique d'activation du complément fait intervenir la liaison des anticorps fixant le complément sur l'antigène correspondant ; il a cependant été mis en évidence que le CMV pouvait activer le complément par la voie classique de manière indépendante des anticorps. Cette action pourrait résulter de l'activation par le CMV de la synthèse d'une protéine se liant directement à la fraction C1q du complément.

1.2. Immunité spécifique : réponse anticorps

1.2.1. Antigènes du CMV

Le génome du CMV humain contient environ 200 cadres de lecture ouverte (ORF : *open reading frame*) et peut donc théoriquement coder pour autant de protéines. Les produits des gènes très précoces (IE : *immediate early*) sont des protéines synthétisées immédiatement après la pénétration du CMV dans la cellule et qui ont essentiellement des fonctions de transactivateurs. Les produits des gènes précoces (E : *early*), synthétisés avant la réplication de l'ADN viral, sont surtout des protéines et des enzymes intervenant dans la réplication de cet ADN. Les produits des gènes tardifs (L : *late*), synthétisés après le début de la réplication de l'ADN viral, sont représentés en grande partie par des protéines de structure constitutives de la particule virale.
Certaines de ces protéines ont une immunogénicité particulièrement marquée ; elles représentent des antigènes majeurs du CMV et constituent une cible privilégiée pour les réponses anticorps ou les réponses cytotoxiques.

1.2.2. Anticorps anti-CMV

1.2.2.1. Production des anticorps

Les lymphocytes B possèdent des immunoglobulines de surface qui représentent le récepteur pour l'antigène. L'interaction entre l'immunoglobuline de surface et l'antigène du CMV, en présence de cytokines produites par les lymphocytes T $CD4^+$, conduit à l'activation du lymphocyte B et à sa différenciation en plasmocyte qui est la cellule productrice d'anticorps. Les anticorps produits ont la même spécificité que l'immunoglobuline de surface du lymphocyte B qui a reconnu l'antigène.

1.2.2.2. Spécificités

De nombreux anticorps dirigés contre les protéines du CMV sont synthétisés en réponse à l'infection. L'analyse par *western blot* des anticorps produits au cours des infections à CMV permet d'identifier une réponse dirigée contre une quinzaine de polypeptides, structuraux ou non structuraux, de masses moléculaires comprises entre 28 et 150 kDa *(tableau 1)*.

Les phosphoprotéines de la matrice (ou tégument), qui sont également les constituants des corps denses, sont des antigènes majeurs du CMV et constituent une cible privilégiée de la réponse anticorps. Pratiquement tous les sérums des sujets infectés par le CMV réagissent avec la protéine de matrice de 150 kDa (UL32, pp150). Des anticorps dirigés contre les phosphoprotéines de matrice pp65 (UL83) et pp28 (ppUL99) sont également présents chez la majorité des sujets infectés. On peut détecter chez les sujets infectés des anticorps dirigés contre

Tableau 1. Réponse anticorps contre les protéines du CMV.

Gène codant	Masse moléculaire (kDa)	Fonction
UL32	150	Phosphoprotéine du tégument
UL86	150	Protéine majeure de capside
UL54	140	ADN polymérase
UL57	130	*Major DNA binding protein* (MDBP)
UL123	72	IE1, transactivateur
UL83	65	Phosphoprotéine majeure du tégument
UL44	52	*DNA binding protein*
UL80,5	38,5	Protéine d'assemblage
UL99	28	Phosphoprotéine du tégument
UL55	55-116	Enveloppe (gB)
UL75	86	Enveloppe (gH)

des protéines de la capside telles que la protéine majeure de capside de 150 kDa (UL86) et la protéine d'assemblage de 38,5 kDa (UL80.5).

Les glycoprotéines d'enveloppe induisent la production d'anticorps dont certains sont neutralisants. Ces anticorps sont essentiellement dirigés contre les glycoprotéines gB (UL55) et gH (UL75).

Les protéines non structurales, présentes dans les cellules infectées au cours des différentes phases du cycle de réplication virale, induisent également la production d'anticorps. On peut ainsi mettre en évidence des anticorps dirigés contre les produits des gènes IE1 et IE2 ou contre des protéines précoces telles que l'ADN polymérase ou des protéines se liant à l'ADN viral (DBP : *DNA binding proteins*).

1.2.2.3. Différentes classes et sous-classes

Les anticorps dirigés contre les différents polypeptides du CMV peuvent appartenir aux différentes classes d'immunoglobulines. Les anticorps détectés dans le sérum sont essentiellement des IgG, des IgM et des IgA. Les anticorps de nature IgD et IgE peuvent être détectés en faible quantité dans le sérum.

Parmi les quatre sous-classes d'IgG, les anticorps anti-CMV sont surtout représentés par les IgG1 et les IgG3. En ce qui concerne les IgA, les IgA1 et IgA2 paraissent être retrouvées de manière équivalente.

Les différents polypeptides paraissent induire de manière préférentielle certaines classes ou sous-classes d'immunoglobulines :

– en ce qui concerne les IgM, la réponse est particulièrement forte vis-à-vis de la DBP de 52 kDa (pUL44) ;

– en ce qui concerne les IgA, ce sont essentiellement les protéines ppUL32 (pp150), pUL44 (DBP de 52 kDa) et pUL57 (*major DNA binding protein* [MDBP], 130 kDa) qui sont les cibles de cette classe d'immunoglobulines au cours des infections ou réinfections à CMV ;

– en ce qui concerne les IgG, les protéines de masses moléculaires intermédiaires (38 à 66 kDa) paraissent induire préférentiellement une réponse IgG3. Dans les sérums de convalescents, une réactivité des quatre sous-classes d'IgG est observée uniquement vis-à-vis de la phosphoprotéine de matrice pp150. En ce qui concerne les glycoprotéines d'enveloppe, on retrouve une réactivité des IgG1 et IgG3 contre la protéine gH, alors qu'on ne retrouve que des IgG1 contre la protéine gB.

1.2.2.4. Cinétique

La cinétique des anticorps appartenant aux différentes classes et sous-classes d'immunoglobulines est présentée dans le *tableau 2*.

Au cours de la primo-infection, on observe l'apparition des anticorps appartenant aux différentes classes d'immunoglobulines. La réponse IgM précède habituellement l'apparition des autres classes d'immunoglobulines ; la protéine de 52 kDa (UL44) représente une cible privilégiée de cette réponse IgM. Les IgG (IgG3 essentiellement) et IgA apparaissent ensuite rapidement. Les IgG qui apparaissent initialement ont une faible avidité pour l'antigène, autrement dit, la liaison IgG-antigène peut être facilement rompue par des agents dissociants tels que l'urée. L'avidité des anticorps pour les antigènes du CMV se développe progressivement au cours des semaines qui suivent la primo-infection. Les IgM et les IgA disparaissent progressivement au cours des semaines ou des mois qui

Tableau 2. Classes d'immunoglobulines produites au cours des infections à CMV.

Classe Ig	Primo-infection	Infection latente	Réactivation/réinfection
IgG (IgG1, IgG3)	++ (IgG3 > IgG1)	+	++ (IgG1 > IgG3)
IgM	++	–	±
IgA	++	±	+
IgD	+	±	+
IgE	+	–	+

suivent la primo-infection. Les IgA dirigées contre certaines protéines peuvent cependant persister durablement et ce sont les IgA dirigées contre les protéines pUL32, pUL44 et pUL57 qui sont plus spécifiquement associées aux infections actives.

Au cours de l'infection latente, des anticorps de nature IgG persistent ; ce sont les anticorps dirigés contre la ppUL32 qui sont retrouvés de la manière la plus constante.

Au cours des réactivations ou réinfections, on peut observer une ascension du taux des IgG, avec une prédominance des IgG1, et l'analyse des anticorps produits par *western blot* montre la réapparition d'anticorps dirigés contre diverses protéines structurales ou non structurales. On observe habituellement une réapparition des IgM et des IgA. La réponse IgM peut être cependant absente ou retardée chez les sujets immunodéprimés.

Par ailleurs, au cours des infections actives à CMV (primo-infection, réinfection/réactivation), on peut détecter dans le sang circulant des cellules qui produisent in vitro des anticorps anti-CMV. Cette apparition dans le sang circulant de cellules productrices d'anticorps précède la réponse anticorps détectée dans le sérum et elle témoigne de la stimulation du système immunitaire par les antigènes du CMV. Ces cellules circulantes productrices d'anticorps sont des lymphocytes B en transit entre le site d'induction et le site de production des anticorps.

1.2.3. Rôle des anticorps dans l'infection à CMV

Les anticorps ne jouent qu'un rôle modeste dans l'immunité anti-CMV. En effet, la présence d'anticorps ne protège ni des primo-infections – en cas de traitement prophylactique par immunoglobulines anti-CMV –, ni des réinfections ou réactivations – chez les individus séropositifs pour le CMV. Seules les particules virales extracellulaires peuvent être la cible des anticorps neutralisants. Or, la libération de virions dans le milieu extracellulaire est très faible et la propagation du virus se fait essentiellement par passage de cellule à cellule, le virus étant véhiculé par les monocytes, les polynucléaires neutrophiles et les cellules endothéliales circulantes *(figure 3)*. Les anticorps neutralisants ont donc probablement un impact restreint sur la dissémination et la réplication du virus.

On peut toutefois attribuer aux anticorps un effet protecteur partiel. Même si elle ne protège pas contre l'infection, l'administration d'immunoglobulines anti-CMV

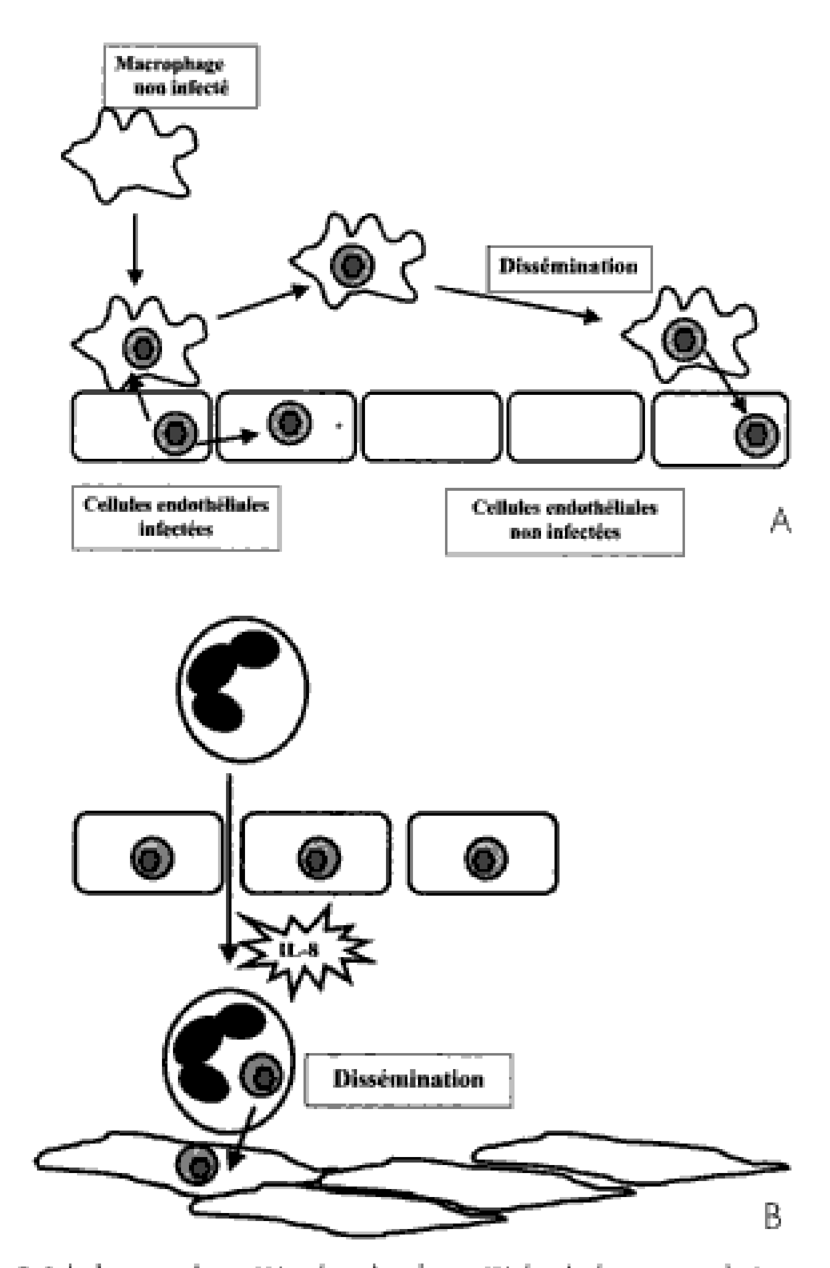


Figure 3. Rôle des macrophages (**A**) et des polynucléaires (**B**) dans la dissémination du CMV.

chez les sujets séronégatifs paraît protéger contre les formes sévères de maladie à CMV. Le passage transplacentaire des anticorps maternels pourrait protéger le fœtus contre les formes sévères d'infection congénitale qui s'observent presque exclusivement chez les enfants contaminés lors d'une primo-infection maternelle. Chez les sujets ayant un déficit de l'immunité à médiation cellulaire tels que les receveurs d'allogreffe, la présence d'anticorps pourrait également expliquer la moindre sévérité clinique des réinfections ou réactivations par rapport aux primo-infections.

Les anticorps anti-CMV participent à la destruction du réservoir de virus intracellulaire : les anticorps fixés sur les antigènes viraux exprimés à la surface des cellules infectées permettent la lyse de ces cellules par le mécanisme de cytotoxicité dépendante des anticorps et par activation du complément.

1.2.4. Intérêt diagnostique des anticorps anti-CMV

L'analyse de la réponse humorale vis-à-vis du CMV fait partie de la démarche diagnostique.

La détermination du statut immunitaire permet d'identifier les sujets à risque de primo-infection lorsque celle-ci présente un risque particulier, chez les receveurs d'allogreffe et les femmes enceintes notamment. Ce diagnostic est basé sur la recherche des anticorps de nature IgG. Des IgG dirigées contre la protéine de matrice ppUL32 sont retrouvées chez la quasi-totalité des sujets anciennement infectés par le CMV.

Un diagnostic de primo-infection est basé sur l'observation d'une séroconversion avec présence d'IgM. Les IgA sont présentes dans les primo-infections mais elles peuvent persister en dehors de celles-ci et la recherche des IgA n'est pas de pratique courante dans le cadre du diagnostic des infections à CMV. Il a été également rapporté que la détection d'IgE spécifiques dans le sérum était associée à la primo-infection mais le nombre d'études est très limité et cette recherche n'a jamais été intégrée dans la pratique courante. La mise en évidence d'IgD spécifiques n'a pas non plus d'applications pour le diagnostic des infections à CMV.

La réactivation ou réinfection se caractérise par une ascension du taux d'IgG, accompagnée généralement d'une réapparition des IgM et des IgA. Cette réponse est néanmoins perturbée chez les sujets immunodéprimés pour lequel le sérodiagnostic ne constitue pas une méthode de choix pour mettre en évidence une réactivation ou réinfection à CMV. Chez le sujet immunocompétent, une augmentation du taux des IgG accompagnée de la présence d'IgM ne permet pas de différencier une primo-infection d'une réactivation/réinfection : c'est la détermination de l'avidité des IgG qui permet de différencier la primo-infection (faible avidité) de la réactivation/réinfection (avidité élevée).

2. Réponse immunitaire à médiation cellulaire

2.1. Réponses non spécifiques

2.1.1. Cellules phagocytaires

2.1.1.1. Macrophages

Les macrophages jouent un rôle majeur dans la réponse immunitaire. Ils interviennent, d'une part, dans l'immunité naturelle par leur fonction de phagocytose et, d'autre part, ils initient la réponse immunitaire spécifique par leur fonction de présentation des antigènes viraux aux lymphocytes CD4 et par la production de cytokines, en particulier l'IL-1.

La fonction de phagocytose confère aux macrophages un rôle de filtre antiviral. Dans un modèle murin, il a été mis en évidence que la destruction des macrophages augmentait considérablement la réplication du CMV murin et sa dissémination. Il faut cependant noter que le CMV persiste dans le macrophage et que cette infection n'est pas sans conséquences. D'une part, le macrophage infecté est un agent de dissémination de l'infection *(figure 3)* ; d'autre part, le CMV perturbe considérablement la production de cytokines par le macrophage

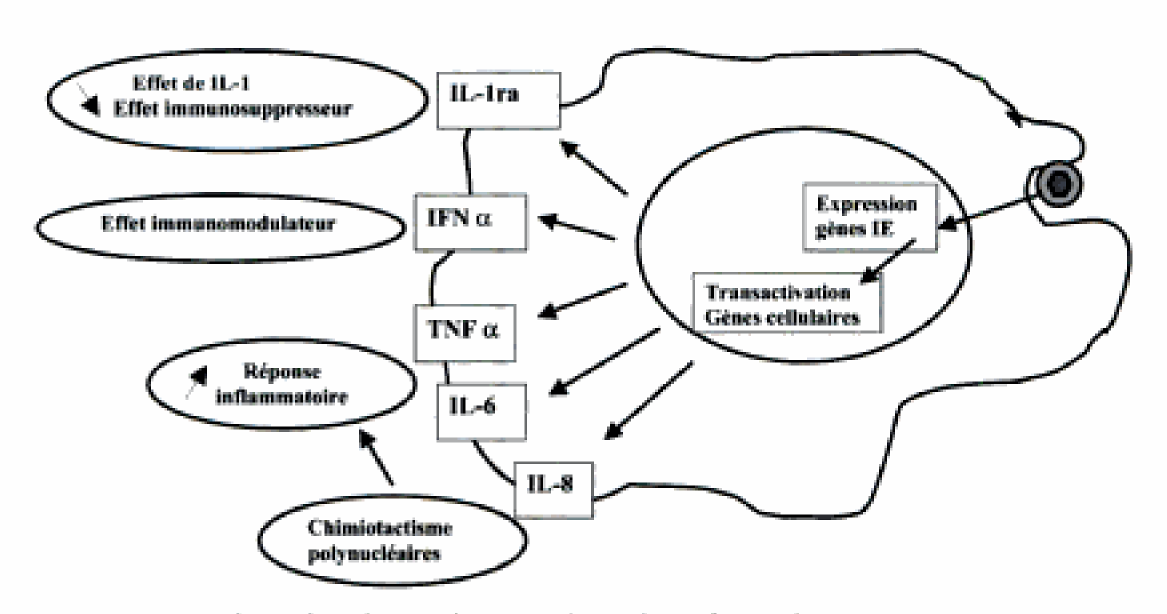


Figure 4. Production de cytokines par le monocyte/macrophage infecté par le CMV.

qu'il infecte, ce qui se traduit entre autres par une immunodépression *(figure 4)*. Le macrophage intervient également dans les mécanismes de cytotoxicité dépendante des anticorps. Le macrophage possède des récepteurs pour le fragment Fc des IgG. Les anticorps anti-CMV fixés sur les macrophages par leur fragment Fc peuvent se fixer par leurs fragments Fab sur les antigènes du CMV exprimés par les cellules infectées. L'anticorps crée ainsi un pont entre la cellule infectée et le macrophage qui peut exercer une action cytotoxique sur celle-ci *(figure 5)*.

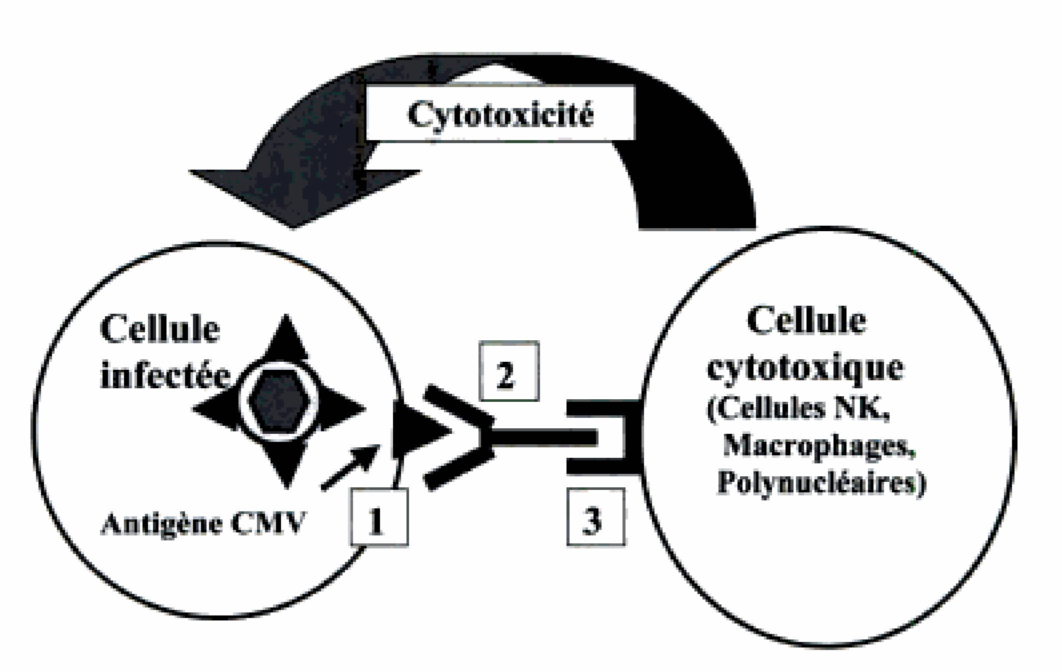


Figure 5. Cytotoxicité dépendante des anticorps (*antibody-dependant cellular cytotoxicity*, ADCC). Les antigènes du CMV (**1**) exprimés à la surface de la cellule infectée sont la cible d'anticorps (**2**) fixés à la cellule cytotoxique par un récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines (**3**).

2.1.1.2. Polynucléaires neutrophiles

L'infection par le CMV induit la production d'IL-8 qui permet un recrutement de polynucléaires neutrophiles. Le polynucléaire peut ingérer la particule virale. Dans le polynucléaire, le CMV ne se réplique pas, mais il n'est pas non plus détruit puisque la co-culture de polynucléaires infectés avec des fibroblastes permet l'isolement du virus. Les polynucléaires ne paraissent donc pas jouer de rôle dans l'élimination du virus mais interviennent plutôt dans sa dissémination *(figure 3)*.

2.1.2. Cellules NK

Les cellules NK sont des cellules lymphoïdes identifiables par le marqueur CD16 qui exercent une action cytotoxique sur des cellules présentant une expression altérée des molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité, c'est-à-dire essentiellement des cellules tumorales et des cellules infectées par certains virus. Les interférons α, β et γ, ainsi que d'autres cytokines telles que l'IL-2, l'IL-12 et l'IL-15, ont un effet activateur sur les cellules NK.

Le CMV inhibe l'expression membranaire des molécules de classe I. Cette inhibition est due à l'expression des gènes US2, US3 et US11 qui sont responsables de la séquestration et de la dégradation des molécules de classe I dans la cellule infectée. Cette inhibition de l'expression des molécules de classe I par le CMV crée des conditions favorisant l'action cytotoxique des NK.

La cytotoxicité des cellules NK s'exerce également par le mécanisme de cytotoxicité dépendante des anticorps. Les cellules NK peuvent en effet fixer le fragment Fc des anticorps et exercer leur action cytotoxique sur les cellules exprimant à leur surface les protéines virales reconnues par ces anticorps *(figure 5)*.

Les cellules NK participent donc à la destruction des cellules infectées par le CMV. Les déficits de l'immunité à médiation cellulaire conférés par les traitements immunosuppresseurs ou par l'infection à VIH s'accompagnent habituellement d'un déficit de la fonction NK ; ce déficit a probablement une responsabilité dans la sensibilité accrue à l'infection à CMV des sujets atteints d'un déficit de l'immunité cellulaire. Il a par ailleurs été mis en évidence chez les sujets transplantés que le développement de la réponse NK était corrélé à une amélioration clinique.

2.2. Réponse spécifique

2.2.1. Lymphocytes T CD4+

Le lymphocyte T CD4+ ou auxiliaire (*helper*) joue un rôle central dans la réponse immunitaire spécifique puisqu'il active la réponse cytotoxique des lymphocytes T CD8+ et la réponse anticorps des lymphocytes B *(figure 6)*.

Les antigènes viraux sont internalisés dans les cellules présentatrices d'antigène (CPA) qui peuvent être des macrophages, des cellules dendritiques ou des lymphocytes B. Dans la cellule, les antigènes sont partiellement dégradés pour donner des peptides d'une dizaine d'aminoacides représentant différents épitopes du CMV qui s'associent aux molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Le complexe formé par les deux chaînes (α et β) de la molécule de classe II associées à l'épitope est exprimé à la surface de la CPA.

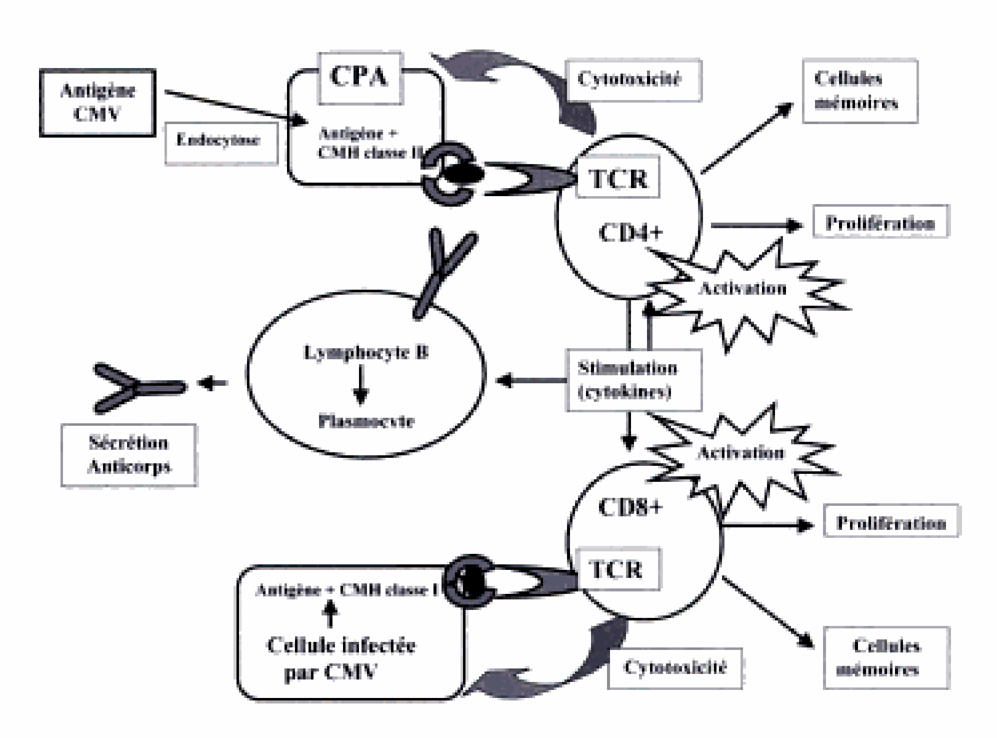


Figure 6. Rôle central des lymphocytes T CD4+ (helper) dans la réponse immunitaire.

Ce complexe est reconnu par le récepteur de l'antigène (*T-cell receptor* : TCR), spécifique de cet épitope, présent à la surface du lymphocyte T *helper*. L'interaction du TCR avec son ligand, en présence d'IL-1 produite par la CPA, va conduire à une activation du T *helper*, caractérisée par l'acquisition du marqueur HLA/DR. Cette activation entraîne une prolifération clonale de lymphocytes T CD4+ spécifiques de cet épitope du CMV. Ces lymphocytes activés vont produire des cytokines qui vont activer la réponse cytotoxique des lymphocytes T CD8+ (réponse TH1 : IL-2, IFN γ, IL-12) ou induire la réponse anticorps par activation des lymphoctes B (réponse TH2 : IL-4, IL-5, IL-10, IL-13). Les cytokines produites par les lymphocytes T *helper* ont aussi une action activatrice sur les cellules NK. Par ailleurs, le lymphocyte T CD4+ est capable d'exercer une action cytotoxique sur les cellules exprimant les épitopes du CMV associés aux molécules de classe II. L'impact de cette action cytotoxique paraît d'importance secondaire en raison de la proportion relativement faible des cellules infectées exprimant les molécules de classe II. Cependant, l'interféron γ induit l'expression membranaire des molécules de classe II par des cellules n'exprimant pas spontanément ces molécules ; il augmente donc le pool des cellules sensibles à l'activité cytotoxique des lymphocytes T CD4+.

La réponse T *helper* peut être mise en évidence in vitro par des tests de prolifération des lymphocytes T CD4+ en présence des protéines virales. On a pu ainsi identifier des réponses contre les glycoprotéines d'enveloppe gB et gH, les protéines IE1 et IE2 et la protéine de matrice pp65 (*tableau 3*). Des lymphocytes T CD4+ mémoires – exprimant le marqueur CD45RO – sensibilisés aux antigènes du CMV persistent dans l'organisme. Il a été mis en évidence que les

Tableau 3. Réponses cellulaires contre les protéines du CMV.

Protéine	Réponse T helper	Réponse T cytotoxique
ppUL32 (pp150)	?	+
ppUL83 (pp65)	++	+++
pUL123 (IE1)	++	++
gpUL55 (gB)	+	+
gpUL75 (gH)	+	+

lymphocytes T CD4+ mémoires spécifiques du CMV représentaient plus de 1 % des lymphocytes T CD4+ ; cette proportion est plus élevée que ce qui est observé pour les virus herpès simplex ou varicelle-zona.

La réponse lymphocytaire T *helper* est essentielle pour conférer une protection contre le CMV. Les déficits immunitaires touchant les lymphocytes T CD4+ (traitement immunosuppresseur, sida) s'accompagnent en effet d'infections à CMV persistantes – souvent cliniquement sévères – traduisant l'absence de contrôle de la réplication virale par le système immunitaire. La restauration même incomplète du nombre et des fonctions des lymphocytes T CD4+ s'accompagne de la disparition de la virémie à CMV et des symptômes associés.

Il a été également observé une profonde altération de la réponse des lymphocytes T *helper* aux antigènes du CMV chez les enfants atteints de maladie congénitale à CMV, l'exposition au virus in utero ayant pu conduire à une délétion clonale des lymphocytes T *helper* spécifiques du virus.

2.2.2. Lymphocytes T CD8+

Les lymphocytes T CD8+ exercent une activité cytotoxique sur les cellules infectées par le CMV. Ils jouent un rôle fondamental dans le contrôle de l'infection. Chez les patients immunodéprimés, les infections sévères à CMV sont associées à un déficit des lymphocytes T CD8+ spécifiques du CMV. Chez les transplantés de moelle osseuse, il a été mis en évidence que le transfert de clones de lymphocytes T CD8+ en provenance du donneur permettait de contrôler l'infection. Le maintien de l'activité des lymphocytes T CD8+ transférés était cependant dépendant de l'activité de la fonction T *helper*.

L'activité des lymphocytes T CD8+ est en effet dépendante des cytokines produites par les lymphocytes T CD4+ activés, en particulier l'IL-2 et l'interféron γ.

Dans la cellule infectée par le CMV, les protéines virales en cours de synthèse s'associent avec les molécules de classe I du CMH dans le réticulum endoplasmique. L'antigène viral associé aux molécules de classe I est exprimé à la surface de la cellule. Ce complexe est reconnu par le TCR du lymphocyte T CD8+. Cette reconnaissance de l'antigène par le TCR conduit, en présence d'IL-2 et d'interféron γ, à l'activation du lymphocyte qui acquiert les marqueurs CD38 et HLA/DR. Le lymphocyte activé va exercer une action cytotoxique sur la cellule cible ; cette action est due à la production de médiateurs cytotoxiques – tels que la

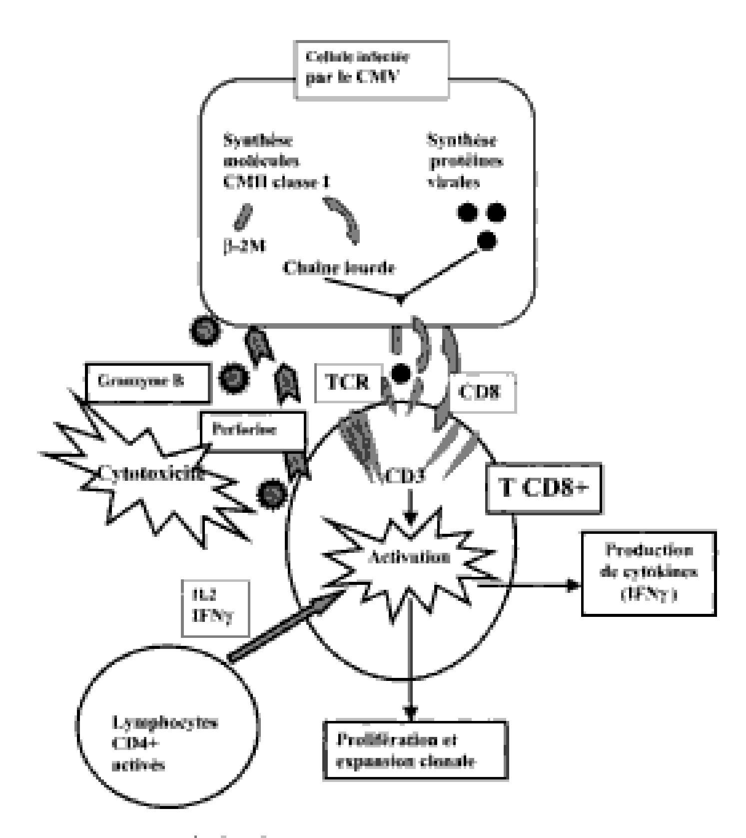


Figure 7. Action cytotoxique des lymphocytes T CD8⁺.

perforine et le granzyme B – qui vont entraîner des lésions membranaires sur la cellule cible *(figure 7)*.

L'activité cytotoxique des lymphocytes T CD8⁺ peut être mise en évidence in vitro par des tests de cytotoxicité basés sur le relargage de chrome radioactif. Plus récemment, des techniques permettant de dénombrer les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques ont été développées. Ces techniques font appel à l'utilisation de peptides (antigènes) complexés à des tétramères de molécules du CMH de classe I, ce complexe venant se fixer sur les TCR des lymphocytes T CD8⁺. Il est possible d'utiliser des molécules du CMH de classe I marquées permettant de dénombrer les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques par cytométrie en flux. Un autre type de technique fait appel à la mise en évidence de la production intracellulaire de cytokines (principalement l'interféron γ) par les lymphocytes T CD8⁺ en réponse à l'antigène et à leur numération par une technique d'Elispot. On peut ainsi identifier une réponse cytotoxique dirigée contre différentes protéines du CMV *(tableau 3)*. Des lymphocytes T CD8⁺ mémoires – portant le marqueur CD45RO – sensibilisés aux protéines du CMV persistent dans l'organisme. Chez les sujets immunocompétents, les lymphocytes T CD8⁺ spécifiques des peptides du CMV peuvent représenter plus de 4 % des lymphocytes T CD8⁺ et une proportion importante de ces lymphocytes manifeste une activité cytotoxique. Comme cela a été observé avec les lymphocytes T CD4⁺, le nombre de lymphocytes T CD8⁺ spécifiques du CMV paraît beaucoup plus élevé que le

nombre de lymphocytes T CD8$^+$ spécifiques des virus herpès simplex ou varicelle-zona. Les réponses T *helper* et T cytotoxiques dirigées contre le CMV se maintiennent donc à un niveau élevé, ce qui est probablement indispensable au contrôle de la réplication virale par le système immunitaire. La persistance d'un niveau élevé d'activités T *helper* et T cytotoxiques spécifiques du CMV traduit certainement une stimulation répétée du système immunitaire, en raison d'épisodes répétés de réactivation virale.

2.3. Échappement du CMV à l'immunité à médiation cellulaire

Le CMV est peu sensible à l'action des anticorps car sa dissémination se fait essentiellement par passage de cellule à cellule. Le virus met également à profit différentes stratégies qui lui permettent d'échapper aux réponses cellulaires.

La persistance du virus sous forme latente après la primo-infection permet au virus d'échapper à l'action du système immunitaire. En effet, les protéines virales n'étant pas exprimées au stade de latence, les cellules hébergeant le virus à l'état latent ne représentent plus une cible pour les réponses immunitaires.

L'infection par le CMV induit un état d'immunosuppression transitoire qui favorise la survenue d'autres infections et qui affecte probablement la qualité de la réponse anti-CMV. Cette immunosuppression se traduit par une diminution de la réponse des lymphocytes T CD4$^+$ aux antigènes et à certains mitogènes. On observe également une augmentation des lymphocytes T CD8$^+$ – ce qui entraîne une inversion du rapport CD4$^+$/CD8$^+$ – qui s'accompagne d'une diminution de la réponse des lymphocytes T CD8$^+$ à la concanavaline A et de la réponse cytotoxique. Il a été observé également une diminution de la réponse des NK au cours de l'infection à CMV.

Cet effet immunosuppresseur du CMV résulte probablement de l'infection des monocytes/macrophages et des lymphocytes par le virus. Il a été notamment mis en évidence que l'infection des monocytes/macrophages réduisait l'activité de l'IL-1 qui intervient dans l'activation de la réponse des lymphocytes T CD4$^+$. Cet effet inhibiteur sur l'IL-1 pourrait résulter de la production d'un antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1ra) par le monocyte/macrophage infecté.

La réponse des lymphocytes T CD4$^+$ – *helper* et cytotoxique – est conditionnée par l'expression des antigènes du CMV associés aux molécules du CMH de classe II, alors que la réponse cytotoxique des lymphocytes T CD8$^+$ est conditionnée par l'expression des antigènes viraux associés aux molécules du CMH de classe I. Nous avons signalé l'inhibition de l'expression des molécules du CMH de classe I dans les cellules infectées par le CMV ; il a été également rapporté une diminution de l'expression des molécules de classe II – en réponse à l'interféron γ – dans les cellules infectées par le CMV. Cette action inhibitrice sur l'expression des molécules de classes I et II altère probablement l'intensité des réponses T *helper* et T cytotoxiques spécifiques du CMV.

L'inhibition de l'expression des molécules du CMH de classe I devrait rendre les cellules infectées par le CMV plus sensibles à l'action inhibitrice des cellules NK. Cependant, le gène *UL18* du CMV code un analogue des molécules de classe I qui est exprimé à la surface des cellules infectées et qui se lie avec le récepteur LIR/CD94 des cellules NK, inhibant ainsi leur activité cytotoxique sur la cellule infectée par le CMV.

Le CMV est capable d'altérer, par différents mécanismes, les réponses immunitaires dirigées contre lui-même. La persistance du virus résulte donc d'un équilibre subtil entre le CMV et le système immunitaire qui démontre la remarquable adaptation du virus à son hôte.

Pour en savoir plus

Ahn K, Angulo A, Ghazal P, Peterson PA, Yang Y, Fruh K. Human cytomegalovirus inhibits antigen presentation by a sequential multistep process. Proc Natl Acad Sci USA 1996 ; 93 : 10990-5.

Asamura H, Sharp M, Maecker HT, Maino VC, Arvin AM. Frequencies of memory T cells specific for varicella-zoster virus, herpes simplex virus and cytomegalovirus by intracellular detection of cytokine expression. J Infect Dis 2000 ; 181 : 859-61.

Boppana SB, Britt WJ. Recognition of human cytomegalovirus gene products by HCMV-specific cytotoxic cells. Virology 1996 ; 222 : 293-6.

Chee MS, Satchwell SC, Preddie E, Weston KM, Barrell BG. Human cytomegalovirus encodes three G protein-coupled receptor homologues. Nature 1990 ; 344 : 774-7.

Farrell HE, Vally H, Lynch DM, Fleming P, Shellam GR, Scalzo AA, Davis-Poynter NJ. Inhibition of natural killer cells by a cytomegalovirus CMH class I homologue in vivo. Nature 1997 ; 386 : 510-4.

Gillespie GM, Wills MR, Appay V, O'Callaghan C, Murphy M, Smith N, et al. Functional heterogeneity and high frequencies of cytomegalovirus-specific CD8(+) T lymphocytes in healthy seropositive donors. J Virol 2000 ; 74 : 8140-50.

Greijer AE, van de Crommert JMG, Stevens SJC, Middeldorp JM. Molecular fine-specificity analysis of antibody responses to human cytomegalovirus and design of novel synthetic-peptide-based serodiagnostic assays. J Clin Microbiol 1999 ; 37 : 179-88.

Gyulai Z, Endresz V, Burian K, Pincus S, Toldy J, Cox WI, et al. Cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses to human cytomegalovirus pp65, IE1-exon4, gB, pp150, and pp28 in healthy individuals : reevaluation of prevalence of IE1-specific CTLs. J Infect Dis 2000 ; 181 : 1537-46.

Lopez C, Arvin AM, Ashley R. Immunity to herpesvirus infections in humans. In : Roizman B, Whitley RJ, Lopez C, Eds. The human herpesviruses. New York : Raven Press ; 1993. p. 397-425.

Michelson S. Interaction of human cytomegalovirus with monocytes/macrophages : a love-hate relationship. Pathol Biol 1997 ; 45 : 146-58.

Miller DM, Rahill BM, Boss JM, Lairmore MD, Durbin JE, Waldman JW, Sedmak DD. Human cytomegalovirus inhibits major histocompatibility complex class II expression by disruption of the Jak/Stat pathway. J Exp Med 1998 ; 187 : 675-83.

Ploegh HL. Viral strategies of immune evasion. Science 1998 ; 283 : 248-53.

Rasmussen LE. Gene products of cytomegalovirus and their immunologic significance. In : Ho M, Ed. Cytomegalovirus – Biology and infection. 2nd ed. New York : Plenum Publishing Corporation ; 1992. p. 37-56.

Reyburn HT, Mandelboim O, Vales-Gomez M, Davis DM, Pazmany L, Strominger JL. The class I homologue of human cytomegalovirus inhibits attack by natural killer cells. Nature 1997 ; 386 : 514-7.

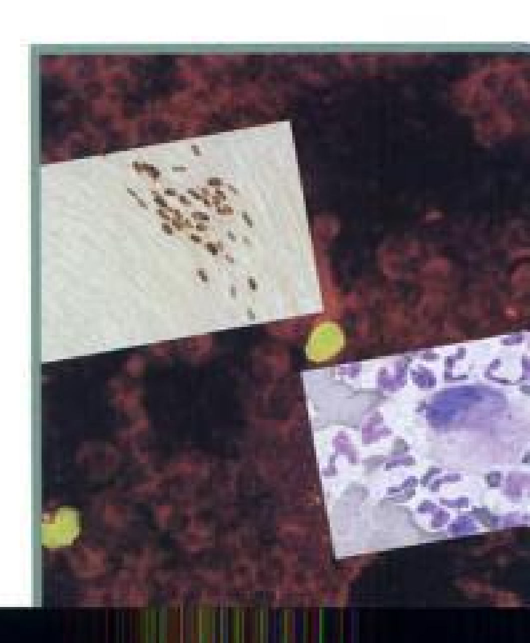
Segondy M, Salhi L. IgG, IgM and IgA antibody responses against immediate-early, early and late human cytomegalovirus proteins in patients with HCMV infections. Serodiagn Immunother Infect Dis 1995 ; 7 : 121-8.

Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, Finch RJ, Watanabe KS, Thomas ED, Riddell SR. Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogenic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. N Engl J Med 1995 ; 333 : 1038-44.

Whitton JL, Oldstone MBA. Immune response to viruses. In : Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Eds. Fundamental virology. 3rd ed. Philadelphia : Lippincott-Raven ; 1996 : 311-40.

Diagnostic de l'infection à cytomégalovirus

Sophie Alain, Sylvie Rogez



Le cytomégalovirus (CMV), comme tous les herpèsvirus, est capable d'induire, après la primo-infection, une infection latente au cours de laquelle peuvent survenir des infections secondaires, par réactivation du virus endogène ou réinfection par une nouvelle souche. L'infection à cytomégalovirus se caractérise par son tropisme tissulaire très large, tout organe pouvant être infecté, et ses sites de latence multiples. Les conséquences cliniques très variées de l'infection à CMV dépendent de l'état immunitaire du sujet atteint. Le diagnostic de l'infection peut être fait dans des circonstances diverses et, selon les cas, il faudra reconnaître une infection latente, faire la preuve de la primo-infection, d'une maladie à CMV ou de la transmission maternofœtale, dépister une infection active avant la survenue de symptômes cliniques chez les receveurs d'allogreffe ou les patients atteints de sida. Le choix des méthodes diagnostiques qui seront mises en œuvre dépend de la question posée et donc du type d'infection que l'on veut démontrer. Dans tous les cas, il est capital de différencier l'infection active de l'infection latente.

1. Prélèvements

Divers types de prélèvements, destinés à la mise en évidence soit du virus lui-même soit de ses structures (acides nucléiques ou antigènes), sont indiqués en fonction des circonstances cliniques.

La dissémination du virus par voie sanguine caractérise l'infection active ce qui fait du sang un prélèvement de choix. La présence du virus ou de ses structures est recherchée dans les différents compartiments : sang total, cellules (leucocytes, polynucléaires ou cellules mononucléées), plasma ou sérum. Le sang est prélevé sur un anticoagulant dont la nature est fonction de la technique qui sera mise en œuvre, et acheminé au laboratoire dans les 2 à 3 h suivant le prélèvement, à température ambiante. Les sécrétions pharyngées et les urines sont fréquemment sites d'excrétion du virus. En fonction de la symptomatologie clinique, divers prélèvements sont réalisés comme des biopsies (digestives, cérébrales, pulmonaires, hépatiques…) ou des liquides biologiques (le liquide de lavage bronchoalvéolaire ou LBA, le liquide céphalorachidien ou LCR, l'humeur aqueuse, le liquide amniotique…). Le CMV est un virus fragile, dont le pouvoir infectieux est rapidement inactivé par l'exposition à des agents physiques comme la chaleur (exposition à 56 °C pendant 30 min) ou chimiques (l'acidification du milieu, l'éther) et les successions de congélations et décongélations. Les échantillons destinés à l'isolement viral, à l'exception du LCR, doivent être recueillis dans un milieu de transport et acheminés immédiatement au laboratoire, à + 4 °C, pour être inoculés dans les heures qui suivent le prélèvement. Lorsque la prise en charge du prélèvement est retardée, les échantillons sont conservés à + 4 °C jusqu'à 48 h et congelés à – 80 °C si la durée de conservation doit être supérieure. Les échantillons pour recherche d'acides nucléiques viraux sont recueillis dans un tube sec stérile et transportés à + 4 °C au laboratoire dans les 2 h suivant leur prélèvement, en particulier pour la recherche d'ARN messagers viraux, et sont ensuite conservés à – 80 °C. Les conditions de prélèvement et de transport des différents échantillons sont rapportées dans le *tableau 1*.

Tableau 1. Prélèvement et transport des échantillons destinés au diagnostic de l'infection à CMV.

Prélèvement Technique	Anticoagulant Volume	Milieu de transport	Acheminement	Délai maximum entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire
Sang				
Culture (virémie)	Héparine 10 mL		T °AMB*	2 h
Détection d'antigène (antigénémie pp65)	Héparine ou EDTA 7 mL	–	T °AMB*	2 h
PCR (ADNémie plasmatique leucocytaire)	EDTA ou citrate 7 mL	–	T °AMB*	2 h
RT-PCR ou NASBA (ARNémie)	EDTA ou citrate 7 mL	–	T °AMB*	2 h
Moelle osseuse				
Culture cellulaire	Héparine	–	T °AMB*	2 h
PCR	EDTA ou citrate	–	T °AMB*	2 h
Autres prélèvements				
Culture cellulaire	–	Milieu de transport CMV**	+ 4 °C	2 h
PCR	–	–	T °AMB*	2 h

*T °AMB : température ambiante ; **le milieu de transport CMV peut avoir diverses compositions selon les équipes. Une composition courante est la suivante : milieu minimum essentiel (MEM) + sorbitol 37 % + sérum de veau fœtal 10 % + antibiotiques, dilution au 1/2 pour les urines et le LBA, 2 mL pour les prélèvements de faible volume (biopsies, écouvillons pharyngés...).

2. Marqueurs virologiques et techniques de détection

2.1. Mise en évidence directe du virus ou de ses structures

2.1.1. Examen cytologique

Les cellules infectées in vivo sont observées par examen direct après coloration au Giemsa dans les tissus infectés ou dans les culots de cytocentrifugation de liquides biologiques (urine, salive, LCR, LBA). Ces cellules de grande taille sont caractérisées par la présence d'une inclusion intracytoplasmique associée à une inclusion intranucléaire entourée d'un halo clair et repoussant le nucléole, réalisant au maximum l'aspect caractéristique en « œil de hibou ». La présence de telles cellules suggère fortement l'infection à CMV. Cependant, des modifications morphologiques voisines sont observées au cours d'infections dues à

d'autres herpèsvirus. Si l'examen cytologique n'a plus d'application actuellement au laboratoire de virologie en raison de son manque de sensibilité, il garde son intérêt pour l'étude des biopsies d'organe.

2.1.2. Culture cellulaire

Le CMV se multiplie en culture cellulaire sur fibroblastes embryonnaires humains, seules cellules permettant une production de virions à titre élevé. Les fibroblastes en couche monocellulaire confluente d'au moins 48 h offrent la meilleure permissivité au virus. La culture cellulaire est la technique de référence qui permet d'affirmer la présence de virus infectieux au site de prélèvement. Sa mise en œuvre est desservie par la nécessité de disposer d'un laboratoire de culture cellulaire, et par la difficulté de standardisation des techniques, dont le résultat dépend de l'état des cellules au moment de l'inoculation, de l'importance de l'inoculum viral et de l'éventuelle cytotoxicité du prélèvement. Sa sensibilité est inférieure à celle de la détection du génome viral par PCR.

2.1.2.1. Isolement du virus

L'isolement en culture cellulaire est la seule technique qui permet la conservation des souches et donc leur caractérisation ultérieure. Il est possible à partir de tous les types de prélèvement. Ceux-ci sont inoculés sur une couche monocellulaire de fibroblastes embryonnaires humains, cultivés sur flacons de 25 cm², en milieu minimum essentiel (MEM), en présence de 10 % de sérum de veau fœtal. La recherche de virémie est effectuée par coculture des leucocytes recueillis après centrifugation de 10 mL de sang prélevé sur héparine. Les biopsies doivent être broyées dans le milieu de transport avant ensemencement. La présence du virus se traduit par l'apparition d'un effet cytopathique (ECP) caractéristique, constitué de foyers de cellules augmentées de volumes et réfringentes, à croissance lente selon le grand axe des fibroblastes *(figure 1A)*. Les virions produits restent attachés aux cellules infectées et l'infection progresse lentement de cellule à cellule, par contiguïté. Le délai nécessaire à l'obtention des premiers foyers d'ECP peut varier de 3 à 8 j, pour un inoculum fort (urines de nouveau-né infecté in utero par exemple), à 3 voire 6 semaines, avec un délai moyen de culture de

A


B

Figure 1. Diagnostic de l'infection à CMV en culture cellulaire sur fibroblastes embryonnaires humains. A. Culture traditionnelle : effet cytopathique, foyers de cellules augmentées de volumes et réfringentes, à croissance lente selon le grand axe des fibroblastes. B. Culture rapide : mise en évidence des antigènes très précoces dans les cellules infectées en immunofluorescence. On observe une fluorescence nucléaire après marquage avec l'anticorps monoclonal E13 (Argène Biosoft).

9 à 13 j. Il est donc nécessaire de conserver les flacons de culture cellulaire pendant au moins quatre semaines, en renouvelant le milieu de culture une fois par semaine et en effectuant un passage systématique de la nappe cellulaire après deux semaines. Les souches virales entraînées par passages successifs en culture cellulaire ont une croissance plus rapide et produisent des virions dans le milieu de culture cellulaire.

2.1.2.2. Culture rapide

Elle associe une centrifugation de l'inoculum sur des fibroblastes en couche monocellulaire cultivés en plaques à 24 puits et la révélation en immunoperoxydase ou en immunofluorescence *(figure 1B)*, après 24 à 48 h d'incubation, des antigènes viraux très précoces synthétisés au cours du premier cycle viral. La centrifugation de l'inoculum 45 min à 37 °C entre 1 000 et 2 000 *g* favorise l'adsorption du virus en modifiant les propriétés de la membrane cellulaire. Plus sensible que la culture classique pour la détection du virus extracellulaire (virurie) et de sensibilité équivalente pour la détection du virus lié aux cellules (virémie), cette technique a remplacé en diagnostic de routine l'isolement en culture cellulaire, dont les délais de réponse sont incompatibles avec la prise en charge thérapeutique des patients. Tous les types de prélèvements peuvent être inoculés. Les biopsies broyées en milieu de transport et les liquides biologiques sont inoculés sur deux puits de plaque à 24 puits et révélés après 24 h d'incubation. Les prélèvements susceptibles d'être contaminés par des bactéries sont inoculés en double, avant et après filtration sur un filtre de 45 µm. Les leucocytes du sang périphérique sont inoculés sur 6 à 12 puits par un maximum de 10^6 leucocytes par puits, afin de limiter la toxicité cellulaire liée au prélèvement, et révélés après 48 h d'incubation.

2.1.3. Détection des antigènes viraux

2.1.3.1. Détection de l'antigénémie pp65 (pUL83)

On révèle la présence de la protéine pp65 (pUL83) dans les noyaux de polynucléaires circulants. Cette phosphoprotéine précoce-tardive est captée par les polynucléaires circulants au contact des cellules endothéliales infectées. Après sa pénétration dans le polynucléaire, elle gagne le noyau du fait de son tropisme nucléaire. Elle est détectée par réaction d'immunofluorescence ou, plus rarement, d'immunoperoxydase, à l'aide de trousses commercialisées (Argène Biosoft, Biotest). Le sang est prélevé sur anticoagulant (héparine ou EDTA). Le délai entre le prélèvement et la mise en œuvre de la technique doit être inférieur à 2 à 3 h pour éviter la dégradation de l'antigène. Les leucocytes, recueillis après séparation sur gradient de dextran ou après sédimentation 30 min à 37 °C ou encore après lyse du sang total, sont déposés sur lame par cytocentrifugation en spots de 2×10^5 cellules. Après fixation et perméation des cellules fixées, l'antigène est détecté à l'aide d'un ou plusieurs anticorps monoclonaux spécifiques de la protéine pp65 *(figure 2)*. La manipulation technique est réalisée en 3 à 5 h selon les trousses. Il est possible d'observer des cellules endothéliales circulantes infectées qui expriment la protéine pp65 dans le cytoplasme et dans le noyau. La méthode est applicable au LCR, sous réserve d'un nombre suffisant de cellules. Les cellules sont recueillies et déposées sur lame par cytocentrifugation, puis fixées, perméabilisées et colorées.

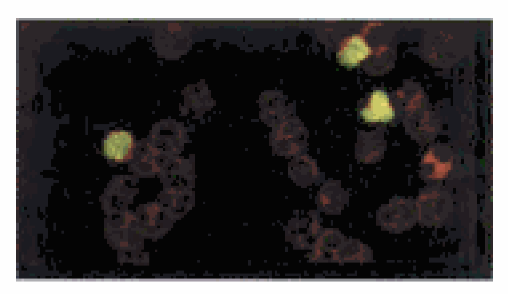


Figure 2. Détection de l'antigène pp65 dans les polynucléaires circulants : la protéine pp65 est détectée dans les noyaux des polynucléaires après marquage en immunofluorescence directe à l'aide d'un ou plusieurs anticorps monoclonaux couplés à la fluorescéine.

La recherche de l'antigénémie pp65 est une technique standardisée, simple et rapide, utilisée dans de nombreux laboratoires pour la détection de l'infection active à CMV. Sa sensibilité est voisine ou supérieure à celle de la culture, mais inférieure à celle de la PCR.

2.1.3.2. Détection des antigènes viraux intracellulaires dans d'autres prélèvements

Les antigènes viraux intracellulaires peuvent être recherchés directement dans le prélèvement à partir d'empreintes de biopsies, de coupes histologiques, de cellules recueillies par ponction de liquide amniotique, par LBA. La révélation est réalisée en immunofluorescence ou en immunoperoxydase à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes très précoces, précoces ou tardifs. Cet examen direct est plus sensible et spécifique que l'examen cytologique. Il est de sensibilité très inférieure à celle de la culture mais il met en évidence des cellules infectées directement dans le prélèvement, et il a l'avantage de la rapidité. L'utilisation de mélanges d'anticorps monoclonaux peut augmenter la sensibilité. Cette technique peut être un complément utile à la culture.

2.1.4. Détection des acides nucléiques viraux

L'ADN génomique ou les ARN messagers viraux peuvent être détectés à partir de tous les types de prélèvement.

2.1.4.1. Détection de l'ADN génomique

À partir de l'ADN total extrait du prélèvement, le génome viral peut être recherché soit directement par hybridation moléculaire, soit après amplification de la cible par réaction de polymérisation en chaîne (PCR). L'interprétation des résultats est qualitative ou quantitative, selon la méthode utilisée.

L'hybridation in situ, qui révèle l'ADN viral directement dans les cellules infectées, est peu sensible, et donc peu adaptée au diagnostic. Elle peut être combinée avec la détection d'antigènes viraux ou cellulaires par immunocytochimie. Elle n'a pas d'application diagnostique et elle reste réservée aux études physiopathologiques.

Les techniques classiques d'hybridation moléculaire directe à l'aide de sondes spécifiques radioactives sur dot blot ne sont plus utilisées en raison de leur manque de sensibilité. Des techniques nouvelles, standardisées et adaptées au diagnostic, ont été récemment développées pour la recherche de l'ADN viral dans le compartiment sanguin (ADNémie). Le principe de la trousse Digene

Hybrid™ System CMVH DNA Assay (Murex/Abbott) repose sur une hybridation directe en tube de l'ADN extrait des leucocytes avec une sonde ARN de grande taille complémentaire de 17 % du génome, suivie d'une capture des hybrides ADN/ARN à l'aide d'un anticorps spécifique et de leur révélation en immunofluorescence. Un résultat positif reflète une infection active. La charge virale en est exprimée en copies/mL de sang total ou en picogrammes/mL. Les résultats de ce test sont bien corrélés à ceux de l'antigénémie. Des discordances sont observées pour les valeurs faibles proches du seuil. La firme Bayer propose un test reposant sur la technologie de l'ADN branché pour détecter le génome à partir des leucocytes. L'ADN viral est libéré des cellules puis hybridé pendant 16 à 18 h en microplaque avec un mélange de sondes oligonucléotidiques ADN choisies dans le gène codant pour la glycoprotéine d'enveloppe gB. Le signal est amplifié lors de la révélation en chimiluminescence par hybridation avec des sondes complémentaires portant un grand nombre de molécules enzymatiques. Cette méthode est en cours d'évaluation. Sa sensibilité est au moins équivalente à celle de la culture. Elle permet une appréciation de la charge virale par quantification de l'ADNémie leucocytaire avec une gamme de 3 $\log_{10}$. Elle est également applicable à la mesure de la charge virale dans le LCR. Aucune de ces techniques n'est actuellement enregistrée à l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps).

La recherche des ADN viraux par PCR est réalisable à partir de tous les types de prélèvements. L'amplification d'un fragment du génome est réalisée par une enzyme, la *Taq* polymérase, permettant, à l'issue de plusieurs cycles successifs d'amplification, l'obtention d'un grand nombre de copies du fragment amplifié. L'hybridation du produit amplifié avec une sonde oligonucléotidique marquée permet de détecter la présence de l'amplicon et de vérifier la spécificité de l'amplification.

La pratique de la PCR au laboratoire impose des contraintes à respecter afin de limiter le risque de contamination et de la détecter si elle survient : locaux séparés pour l'extraction, la pré-amplification et la révélation, introduction dans les séries d'échantillons de témoins négatifs d'extraction et d'amplification. Elle nécessite un équipement spécifique et un personnel formé à la biologie moléculaire.

De nombreuses techniques sont proposées, soit artisanales, soit standardisées et commercialisées. Le fragment amplifié est choisi dans une région spécifique du génome du CMV ou dans une région comportant des homologies avec d'autres herpèsvirus, le virus en cause étant ensuite identifié à l'aide d'une sonde spécifique ou par l'étude du profil de restriction du fragment amplifié. Une trousse permettant l'amplification de six herpèsvirus (virus herpès simplex de types 1 et 2, CMV, virus de la varicelle-zona, virus d'Epstein-Barr et herpès virus 6) dans le LCR est commercialisée (Herpes Consensus generique™, Argène Biosoft). Les méthodes de révélation des produits amplifiés diffèrent selon les techniques. La révélation par hybridation en microplaque peut s'effectuer à l'aide de trousses standardisées disponibles sur le marché (Sorin, Argène Biosoft, Roche-Boehringer). La trousse Amplicor™ CMV (Roche Diagnostics), enregistrée à l'Afssaps, permet l'extraction, l'amplification et la détection qualitative du CMV dans le plasma, les leucocytes et le LCR à l'aide d'un protocole standardisé. Cette trousse inclut un standard interne co-amplifié avec les amorces spécifiques du virus et révélé à l'aide d'une sonde spécifique, et un système uracile-N-glycosidase, qui dégrade les produits des amplifications précédentes avant le premier cycle de PCR, limitant ainsi le risque de contamination.

La sensibilité de la technique dépend de la méthode d'extraction, du choix de la région amplifiée, des techniques d'amplification et de révélation utilisées. L'infection latente peut être mise en évidence chez la plupart des personnes séropositives vis-à-vis du CMV en utilisant une technique de PCR nichée, et, avec des pourcentages variables selon les auteurs, dans les leucocytes de certains sujets séronégatifs. Les tests de PCR habituellement utilisés pour le diagnostic ne détectent que l'infection active, avec une sensibilité toujours supérieure à celle de la culture ou de l'hybridation.

La quantification des génomes viraux par PCR utilise des principes variés comme la co-amplification d'un standard interne ou l'amplification en parallèle d'une gamme d'ADN étalon externe ou encore la détection en temps réel des produits amplifiés. La trousse automatisée (Cobas Amplicor CMV Monitor™), développée par Roche Diagnostics, est basée sur la co-amplification d'un étalon interne. La PCR en temps réel est réalisée à l'aide des technologies nouvelles Taqman (Perkin Elmer) et Lightcycler (Roche). La synthèse des amplicons est révélée par une émission de fluorescence mesurée en continu. L'intégration informatique des données permet d'établir une courbe d'intensité de fluorescence en fonction du temps. La quantification est réalisée en phase exponentielle par comparaison avec une gamme étalon externe. Le principe de la technologie Taqman est résumé sur la *figure 3*. Une sonde spécifique de la séquence à amplifier est

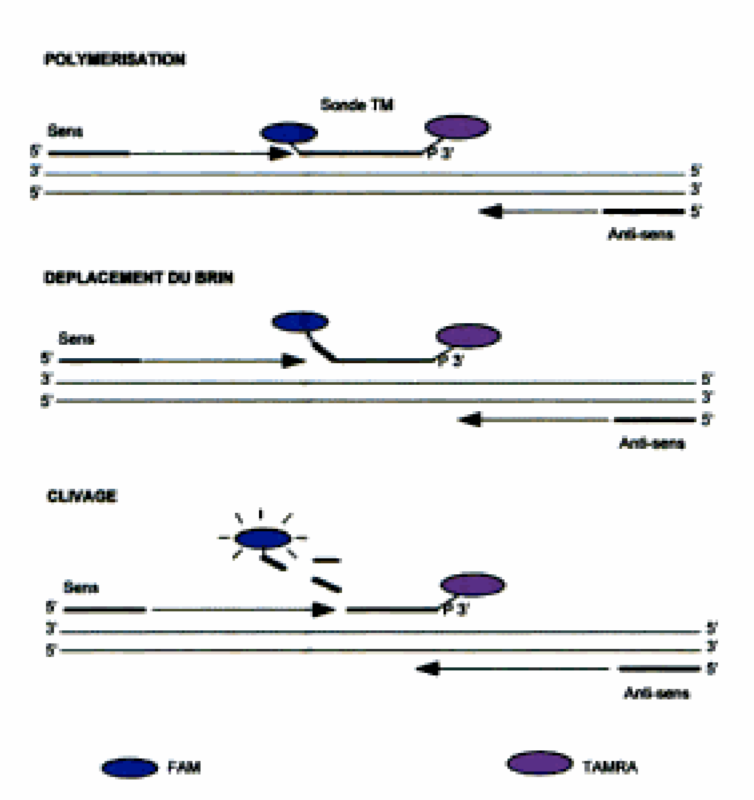


Figure 3. Principe de la méthode Taqman. Schéma d'un cycle d'amplification. Une sonde spécifique (sonde TM) portant à son extrémité 3' une molécule « quencher » (TAMRA) et à son extrémité 5' une molécule fluorescente (FAM) est hybridée à un des brins du fragment à amplifier. La proximité du « quencher » inhibe l'émission de fluorescence. La polymérisation par la Taq polymérase à partir des amorces de PCR déplace la sonde qui est clivée par l'activité nucléasique de la Taq. La molécule fluorescente, séparée du « quencher », émet sa fluorescence qui est directement enregistrée dans le système. Il s'agit donc d'un enregistrement, en temps réel, à chaque cycle, de l'émission de fluorescence due à l'amplification spécifique de l'ADN cible.

ajoutée à l'échantillon. Bloquée en 3' par phosphorylation, elle ne peut pas servir d'amorce. La sonde est marquée en 5' par la fluorescéine et munie en 3' d'un « quencher » qui empêche l'émission de fluorescence. Les amorces et la sonde s'hybrident à l'ADN cible dénaturé. La *Taq* polymérase, par son activité nucléasique 5', clive la sonde au cours de l'extension du fragment amplifié, et libère la molécule de fluorescéine qui, séparée du « quencher », peut émettre sa fluorescence. La sensibilité du test est étroitement dépendante du choix de la région amplifiée, des amorces et des sondes. Appliquée à la détection d'un fragment du gène *UL83* à partir des leucocytes, cette méthode permet la détection de 1 000 copies de génome viral. L'amplification de la région HXLF1 à partir du plasma ou du sérum permet la détection de 500 copies/mL, avec une gamme de quantification linéaire de 5 log_{10} (1 x 10^3 à 2 x 10^8 copies/mL). La technologie Lightcycler utilise l'incorporation progressive d'une molécule fluorescente, le cyber green, dans l'amplicon au fur et à mesure de sa synthèse par PCR. L'émission de fluorescence est proportionnelle au nombre de molécules incorporées. Les premiers essais de quantification du gène de la gB montrent une bonne sensibilité avec un seuil de 100 copies/mL, et une gamme de quantification large, de 6 log_{10} (100 à 10^8 copies/mL). Les résultats sont bien corrélés à ceux obtenus avec la trousse Cobas Amplicor CMV Monitor™ (Roche Diagnostics), avec des discordances dans les fortes charges virales, la gamme de quantification de la trousse Cobas Amplicor CMV Monitor™ étant moins étendue (2 x 10^2 à 2 x 10^6 copies/mL, soit 4 log_{10}).

Bien que nécessitant l'achat initial d'un appareillage coûteux, ces technologies ont de nombreux avantages : leur simplicité, leur économie en manipulations, un échantillon évoluant en circuit fermé de l'amplification à la révélation, diminuant les risques de contamination. Les premiers essais montrent que ces techniques détectent l'infection active, et permettent de mesurer la charge virale, avec une large gamme de quantification. Les performances des tests quantitatifs au cours de la surveillance des patients à risque sont en cours d'évaluation.

En théorie, la quantification est applicable à tous les prélèvements, plasma, leucocytes, LCR, LBA, voire liquide amniotique ou biopsies digestives. Son intérêt est surtout démontré pour la charge virale intraleucocytaire.

2.1.4.2. Mise en évidence des ARN messagers viraux

Elle est réalisable à partir de tous les prélèvements contenant des cellules nucléées. Elle est effectuée soit après une étape de transcription inverse, par amplification par PCR de l'ADN complémentaire, soit par la méthode NASBA (*nucleic acid sequence-based amplification*). Dans ce dernier cas, l'ARN est soumis, après déstabilisation des structures secondaires, à une succession de cycles isothermes à 41 °C, réalisant la synthèse d'ADN puis d'ARN complémentaires à l'aide de deux amorces dont l'une comporte le promoteur de la T7 ARN polymérase (*figure 4*). Les molécules d'ARN accumulées sont détectées en chimiluminescence par hybridation avec une sonde ARN spécifique et quantifiées à l'aide d'un étalon interne. Cette technique nécessite un appareillage spécifique. Elle est bien adaptée aux séries, et l'extraction peut être automatisée, moyennant un appareil supplémentaire. La trousse Nuclisens™ CMV pp67 Assay (Organon Tecknika), enregistrée à l'Afssaps, s'applique à la détection des transcrits tardifs de la protéine de matrice pp67 (pUL65) à partir de 200 µL de sang total prélevé sur anticoagulant. Une trousse Nuclisens™ CMV IE permettant la mise en

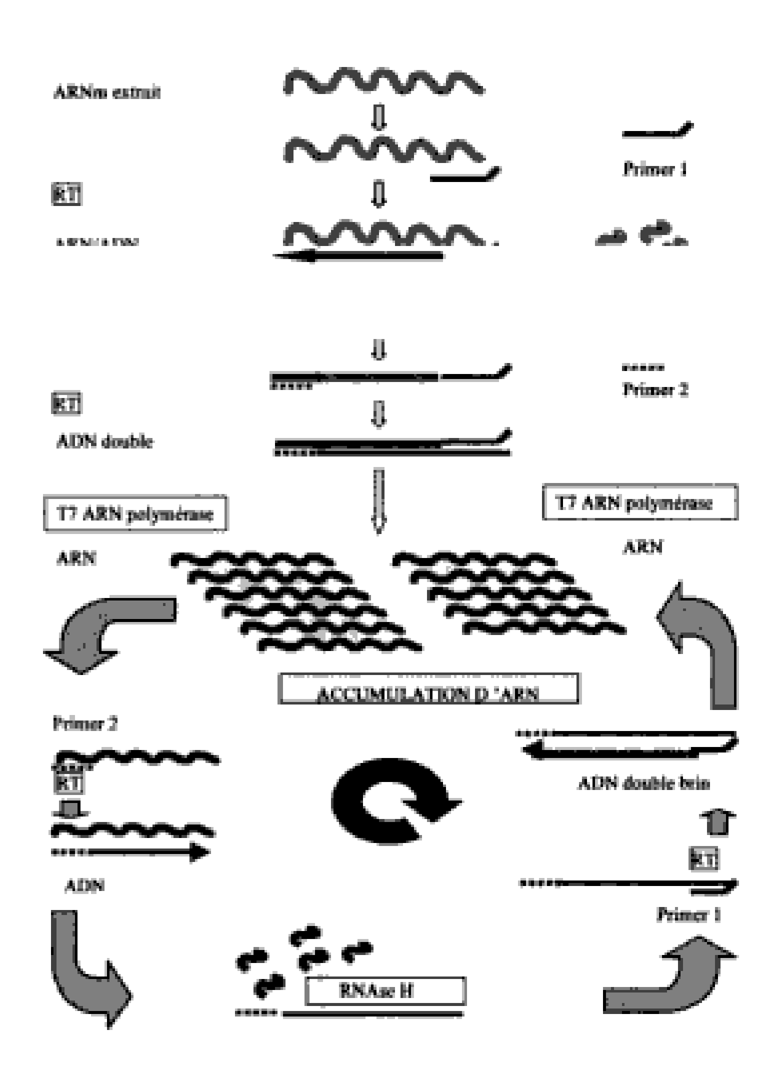


Figure 4. Principe de la méthode NASBA. L'ARN sens extrait est rétrotranscrit par une transcriptase inverse (RT) à partir de l'amorce 1 (primer 1) qui porte à son extrémité 5' un site de fixation pour l'ARN polymérase du phage T7 (T7 ARN polymérase). L'ARN matrice est éliminé par action de la RNase H. L'ADN double brin portant un site de fixation pour la polymérase de phage T7 est synthétisé à partir de l'ADN complémentaire par la transcriptase inverse à partir de l'amorce 2 (primer 2). À partir de cet ADN double brin, est synthétisée une molécule d'ARN. Des cycles de transcription inverse, synthèse d'ADN double brin et synthèse d'ARN, vont ensuite se succéder, conduisant à la production d'un grand nombre de molécules d'ARN.

évidence des transcrits des protéines très précoces (IE1) est en cours d'évaluation. Une nouvelle méthode, en cours de mise au point par la firme Organon Tecknika, permet la quantification en temps réel des messagers très précoces IE1 et la détection qualitative simultanée des messagers tardifs pp67 sur le principe du NASBA. La détection des messagers très précoces précède celle des messagers tardifs qui signent l'infection active. Le test, utilisé pour le suivi des receveurs de greffe, pourrait permettre de détecter les patients à haut risque de développer une maladie à CMV (ARNm IE) et de leur assurer une surveillance renforcée.

Des transcrits très précoces, précoces ou tardifs ont ainsi été recherchés dans les leucocytes ou les monocytes du sang périphérique, les cellules de LBA, ou dans les tissus. La mise en évidence d'ARN messagers tardifs signe sans ambiguïté

l'infection active tandis que la présence de transcrits très précoces dans le sang périphérique a pu être observée à différents stades de l'infection. Le test Nuclisens CMV pp67 a été évalué chez des receveurs d'organe. On observe une bonne corrélation avec l'infection active. L'interprétation de la détection d'ARN messagers IE1 est plus délicate.

2.1.5. Mesure de la charge virale

L'intérêt de la mesure de la charge virale dans le sang au cours de l'infection disséminée a été récemment analysé par Emery et al. par mesure de l'ADN génomique en PCR quantitative, chez des patients receveurs d'allogreffe de moelle ou d'organe et chez des patients atteints de sida. La réplication virale in vivo apparaît comme un processus très dynamique, avec un temps de doublement du CMV dans le sang total compris entre 1 et 2 j. Plus la charge virale initiale est élevée, plus l'augmentation de cette charge virale est rapide. Dans ce modèle, la probabilité de survenue de maladie à CMV dépend de la charge virale initiale et du taux d'augmentation du nombre de copies de génome, exprimé en $\log_{10}$/mL de sang et par jour. De même, le temps nécessaire pour diminuer de moitié la quantité de CMV mesurée dans le sang en réponse à un traitement efficace est de l'ordre de 1,5 à 2,5 j selon les patients. La décroissance est modifiée par l'apparition de souches résistantes au traitement. La détection de l'antigénémie est un moyen simple et reproductible de suivre l'évolution de la charge virale. Les techniques d'hybridation moléculaire ou les techniques d'amplification en temps réel fournissent des moyens de quantification plus coûteux, mais bien standardisés.

À l'heure des traitements anticipés *(preemptive)*, il importe de définir les marqueurs qui vont permettre de prendre une décision thérapeutique. Les méthodes utilisées et les seuils proposés pour l'instauration du traitement sont variés. C'est vraisemblablement le rythme d'augmentation de la charge virale périphérique sur des prélèvements rapprochés, réalisés à partir du moment où des signes biologiques d'infection active apparaissent, qui permet la meilleure appréciation de l'évolution du patient.

2.1.6. Différenciation moléculaire des souches

Il existe un fort degré d'homologie nucléotidique entre les génomes de différentes souches de CMV. Ces génomes diffèrent entre eux par la présence ou l'absence de sites de restriction, permettant de les différencier selon leur profil de restriction en *southern blot*. Cette méthode de référence n'est plus utilisée actuellement en raison de ses contraintes techniques. Elle a été remplacée par des méthodes plus rapides, basées sur l'étude moléculaire de régions variables du génome après leur amplification par PCR. Le choix de la méthode et de la région étudiée dépend de l'objectif fixé : différencier des souches provenant de patients différents, ou bien classer les souches en génotypes.

L'analyse d'une région variable du gène de la glycoprotéine B d'enveloppe (gB, UL55) permet de regrouper les souches en quatre génotypes 1, 2, 3, 4. Le lien entre génotype et caractère pathogène des souches n'est pas encore clairement défini.

Pour différencier les souches, l'analyse de régions hypervariables comme la séquence « a » dans la zone de jonction ou les régions *UL11-13* codant des

glycoprotéines ont été décrites. Il est nécessaire d'associer plusieurs de ces méthodes avant de conclure à l'identité de deux souches. Cette approche permet seule d'apporter la preuve de la transmission d'une souche d'un individu à un autre ou de la réinfection par une nouvelle souche. Ces méthodes ont permis de démontrer que l'infection par des souches multiples n'est pas exceptionnelle chez les patients infectés par le VIH, chez les receveurs d'allogreffe ou chez les enfants fréquentant les crèches.

2.2. Sérodiagnostic

Parmi les 200 protéines codées par le génome du CMV, seul un petit nombre joue un rôle important dans la réponse immunitaire humorale en tant que cibles privilégiées des anticorps. Des anticorps dirigés contre la phosphoprotéine de matrice de 150 kDa (UL32) sont synthétisés chez près de 100 % des patients infectés et leur présence suffit à affirmer la séropositivité. Les phosphoprotéines de matrice de 65 kDa (UL83) et 28 kDa (UL99) sont également très immunogènes. Des anticorps dirigés contre des protéines de la capside telles que la protéine majeure de capside de 150 kDa ou la protéine d'assemblage de 38,5 kDa (UL80.5) et contre certaines protéines non structurales et en particulier les protéines UL44 (protéine accessoire de l'ADN polymérase virale) et UL57 sont fréquemment présents. La protéine UL44 est la cible d'une réponse IgM précoce et importante et revêt un intérêt particulier dans le diagnostic des infections récentes.

En pratique, les tests sérologiques disponibles utilisent comme préparations antigéniques des mélanges de protéines soumises à des étapes de purification variables. Deux méthodes sont utilisées en pratique courante dans les laboratoires. L'agglutination de particules de latex sensibilisées par de l'antigène viral, qui détecte les anticorps totaux, est une technique simple et rapide, mais dont l'interprétation peut être subjective. Un inconvénient majeur est son manque de sensibilité, le pourcentage de faux négatifs pouvant atteindre 5 %. Les tests immunoenzymatiques Elisa sont automatisables et adaptés aux séries. Ils détectent les IgG, les anticorps totaux ou les IgM. Des discordances sont observées entre les résultats des différents tests, en particulier pour les tests IgM, liées à la diversité des préparations antigéniques. La recherche des IgM s'effectue de préférence à l'aide de techniques d'immunocapture qui limitent le risque de faux positifs liés à la présence de facteur rhumatoïde. Le développement de tests Elisa reposant sur l'utilisation de protéines recombinantes ou de peptide de synthèse portant les épitopes les plus immunogènes est en cours pour améliorer la sensibilité et la spécificité de ces techniques.

La présence d'IgM n'est pas toujours un marqueur de primo-infection car celles-ci peuvent persister de façon prolongée pendant plusieurs mois, ou être détectées au cours d'infections secondaires ou à l'occasion de stimulations polyclonales induites par une autre infection. Des faux positifs liés à la présence de facteur rhumatoïde sont exceptionnellement observés malgré l'utilisation de méthodes d'immunocapture qui améliorent la spécificité et la sensibilité des tests. Pour différencier infection primaire et secondaire en l'absence d'un sérum précoce, il est utile de mesurer l'avidité des IgG en présence d'une solution d'urée qui favorise la dissociation des complexes antigènes-anticorps. Les IgG de primo-infection ont une avidité faible pour l'antigène par rapport à l'avidité des IgG

produites au cours des infections secondaires. En pratique, l'indice d'avidité des IgG est supérieur à 60 % lorsque l'infection date de plus de 3 mois et inférieur à 30 % lorsque l'infection date de moins de 3 mois. Entre 30 et 60 %, il est difficile de dater l'infection. Ce test, d'interprétation parfois délicate et encore mal standardisé, est effectué au mieux par un laboratoire expérimenté.

3. Choix des méthodes diagnostiques en fonction des circonstances cliniques

3.1. Définition du statut immunitaire vis-à-vis du CMV

La présence d'IgG ou d'anticorps totaux spécifiques du CMV, recherchée sur un seul échantillon de sérum, permet d'affirmer la séropositivité. Le statut immunitaire vis-à-vis du CMV est systématiquement recherché chez les donneurs de sang pour sélectionner les donneurs séronégatifs, chez le donneur et le receveur d'une greffe d'organe ou de moelle afin d'apprécier le risque d'infection primaire ou secondaire, chez le patient séropositif vis-à-vis du VIH à risque potentiel de maladie à CMV en cas d'immunodépression sévère.

3.2. Dissémination sanguine du virus

Les différentes méthodes démontrant la présence du virus dans le sang périphérique sont résumées dans la *figure 5*.

3.3. Primo-infection du sujet immunocompétent

La séroconversion démontrée sur deux sérums prélevés à 7–10 j d'intervalle en est le meilleur marqueur. Il peut être utile de rechercher des sérums antérieurs, prélevés dans un autre but diagnostique. Le diagnostic sérologique associe la recherche d'IgG et d'IgM spécifiques. Les IgG peuvent apparaître tardivement, 6 à 8 semaines après la primo-infection. En présence d'IgM, une mesure de l'indice d'avidité des IgG sériques peut permettre de dater l'infection. La virémie et l'antigénémie sont présentes pendant 2 à 3 semaines après le début de l'infection. L'ADNémie leucocytaire peut persister dans un cas sur quatre jusqu'à 6 mois après la primo-infection. Au-delà, l'ADN viral n'est plus détecté. L'excrétion du virus dans les sécrétions pharyngées, les urines, le sperme est intermittente et prolongée, et n'a pas d'intérêt diagnostique.

3.4. Infection maternofœtale

3.4.1. Chez la mère

Le dépistage de l'infection à CMV pendant la grossesse n'est pas systématique, et ne fait l'objet d'aucun consensus, bien que le CMV soit la première cause d'infection congénitale d'origine virale. C'est au cours de la primo-infection que le risque de transmission au fœtus (30 à 40 %) et le risque de séquelles sont majeurs. Au cours des réinfections ou des réactivations, le risque de transmission

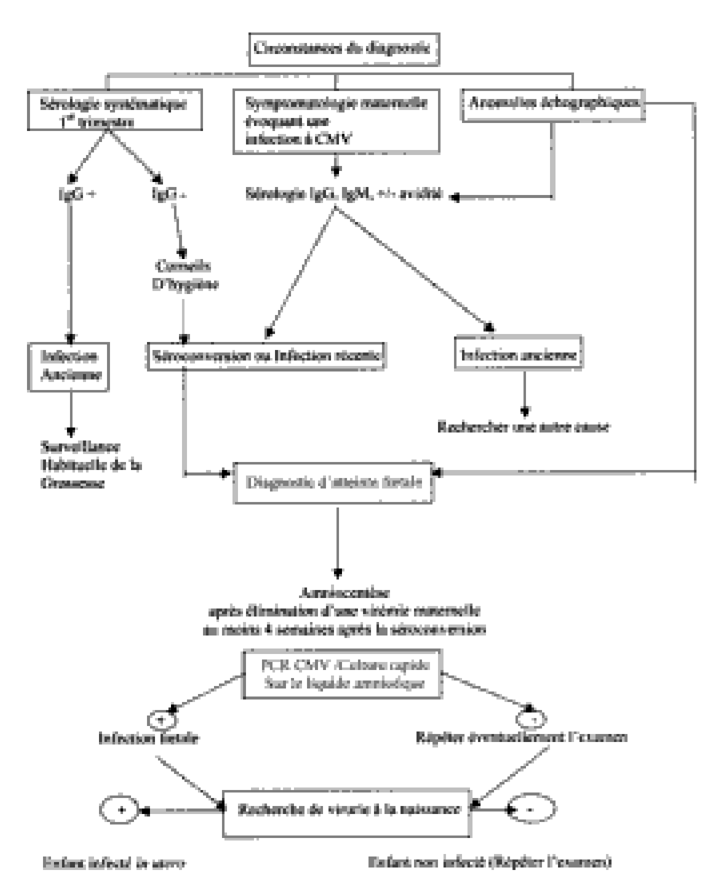


Figure 5. Diagnostic de l'infection à CMV pendant la grossesse. La sérologie CMV au premier trimestre de la grossesse ne fait pas partie du bilan prévu par la législation. Elle est cependant souvent prescrite car elle permet une meilleure surveillance de la grossesse.

est inférieur à 5 % et la survenue de séquelles graves plus rare. Il est donc utile de déterminer le statut sérologique de la femme au cours du premier trimestre de grossesse par une recherche d'IgG. Chez les femmes séronégatives les plus exposées (femme ayant des enfants en crèche, personnel de crèche ou de collectivité d'enfants de moins de 3 ans), les conseils d'hygiène dispensés par le praticien diminuent le risque de contamination. Certains praticiens préconisent une surveillance sérologique trimestrielle, voire mensuelle, à la recherche d'une séroconversion. Ces tests, s'ils permettent de détecter rapidement une séroconversion, ont l'inconvénient d'être un facteur d'anxiété important. Le diagnostic de primo-infection à CMV est entrepris en présence de manifestations cliniques évocatrices d'infection à CMV chez la mère, d'une anomalie morphologique à l'échographie ou d'un retard de croissance in utero *(figure 5)*.

Dans tous les cas, le diagnostic de primo-infection maternelle repose sur la sérologie. La mise en évidence d'une dissémination sanguine du virus chez la mère prouve l'infection active mais ne permet pas de prédire le risque d'infection du fœtus. Elle constitue cependant un risque d'inoculation directe au fœtus au cours de l'amniocentèse, et doit être systématiquement recherchée avant d'effectuer un tel geste.

3.4.2. Chez le fœtus

Le diagnostic prénatal in utero ne peut être pratiqué que sous la responsabilité d'un biologiste habilité, dans un laboratoire bénéficiant d'une autorisation administrative de diagnostic anténatal. Il repose sur la recherche du virus en culture rapide ou par PCR à partir du liquide amniotique. Un délai d'au moins 4 semaines est recommandé entre la séroconversion maternelle et le prélèvement, afin d'éviter un résultat faussement négatif. Certains auteurs proposent de répéter l'amniocentèse après un mois en cas de résultat négatif. Le prélèvement de sang fœtal a un intérêt diagnostique moindre car la détection du virus y est inconstante. Cet examen, qui comporte un risque lié au geste lui-même, est parfois pratiqué à la recherche d'anomalies biologiques non spécifiques (cytolyse hépatique, thrombopénie, anémie avec érythroblastose) témoignant d'une foetopathie infectieuse, qui pourraient avoir une valeur pronostique. Son intérêt est donc controversé. En cas de mort fœtale in utero ou d'interruption thérapeutique de grossesse, la recherche du virus peut être réalisée à partir de tissus fœtaux par culture ou PCR. Dans ce cas, les tissus ne doivent pas avoir été fixés.

3.4.3. À la naissance

Une recherche de virurie doit être pratiquée chez tout nouveau-né suspect d'infection congénitale à CMV. L'isolement du virus avant la troisième semaine de vie signe l'infection acquise in utero. L'excrétion virale, pharyngée et urinaire, est en effet abondante et prolongée. Cette excrétion peut être intermittente. L'absence de virurie détectable sur le premier prélèvement doit faire répéter l'examen à 48 h d'intervalle. D'autres prélèvements, comme la recherche du virus dans le LCR ou le sang, sont indiqués chez les enfants symptomatiques, et doivent être orientés en fonction de la symptomatologie.

3.5. Infection des receveurs d'allogreffe de moelle ou d'organe

À l'heure actuelle, s'il existe un consensus sur le principe de la surveillance d'un receveur de greffe quant à la survenue d'une maladie à CMV, les modalités de cette surveillance et la mise en route d'un traitement anticipé sont sujettes à discussion *(figure 6)*. Le risque de maladie à CMV est maximal dans les 3 mois suivant la transplantation et c'est donc durant cette période que sera mise en place la surveillance du patient. Cette surveillance est le plus souvent effectuée à un rythme hebdomadaire mais, selon les équipes, elle peut être réalisée deux fois par semaine ou toutes les deux semaines. Passé ce délai de 3 mois, la surveillance sera ensuite effectuée à un rythme moins soutenu (tous les mois par exemple, puis tous les 3 ou 6 mois). Elle est réalisée par un test (très souvent recherche d'antigénémie) qui permet de faire un diagnostic précoce de l'infection à CMV et de quantifier la charge virale. Le seuil d'antigénémie à retenir pour instaurer un traitement anticipé varie selon les auteurs et surtout selon le type de greffe. Un seuil à dix cellules positives pour 2×10^5 leucocytes examinés est souvent recommandé pour les receveurs de greffe d'organe, il est d'une à deux cellules pour les receveurs de greffe de moelle. L'augmentation significative du niveau d'antigénémie sur deux prélèvements consécutifs fait craindre la progression vers la maladie à CMV. D'autres préfèrent la PCR leucocytaire qui se positive quelques jours avant l'antigénémie et pour laquelle le seuil retenu pour la mise en route d'un traitement anticipé n'est pas clairement défini : une

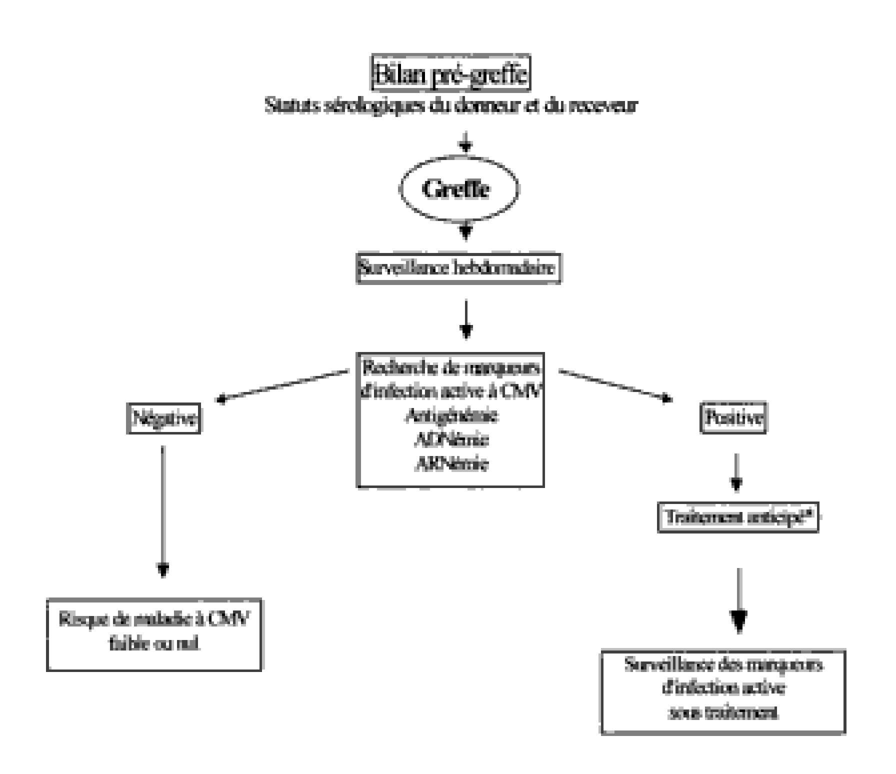


Figure 6. Surveillance de l'infection à CMV après greffe. La décision de traitement anticipé dépend du risque lié à l'infection à CMV. Systématique après allogreffe de moelle osseuse, il pourra être différé en surveillant l'évolution des marqueurs biologiques après greffe de rein par exemple. Dans ce cas, la quantification du virus, à la recherche d'une augmentation de la charge virale, peut être utile.

augmentation de plus de 0,7 log par semaine de la charge virale intraleucocytaire pourrait être significative. Tous s'accordent à l'heure actuelle pour reconnaître que la PCR plasmatique est moins sensible. Un traitement anticipé sera entrepris chez les receveurs de greffe d'organe à partir d'un seuil de 1 000 à 5 000 copies de génome par mL de plasma, mesuré à l'aide de la trousse Cobas Amplicor Monitor (Roche) et chez les receveurs de greffe de moelle dès la détection de l'ADN plasmatique. La surveillance peut aussi être effectuée par la technique d'hybridation (le seuil retenu comme significatif d'infection est pour certains de 60 pg/mL) ou par la recherche des ARNm pp67 contemporaine de l'antigénémie. Il est à noter que chez les patients leucopéniques (nombre absolu de polynucléaires neutrophiles inférieur à 0,2 × 10^9/mL), la détection de l'antigénémie peut être prise en défaut. La durée du traitement instauré ne fait pas l'objet d'un consensus. L'antigénémie se négative dans un délai moyen de 1 à 4 semaines. Ce délai est moindre pour la virémie et supérieur pour la PCR leucocytaire.

3.6. Infection à CMV au cours de l'infection à VIH

Depuis l'avènement de la trithérapie antirétrovirale, l'incidence de la maladie à CMV a diminué de plus de 80 % chez les patients atteints d'infection à VIH. Le risque de maladie à CMV persiste cependant chez les patients conservant un déficit immunitaire sévère. Elle peut être prévenue par un traitement anticipé spécifique, dès l'apparition de marqueurs virologiques d'infection active à CMV

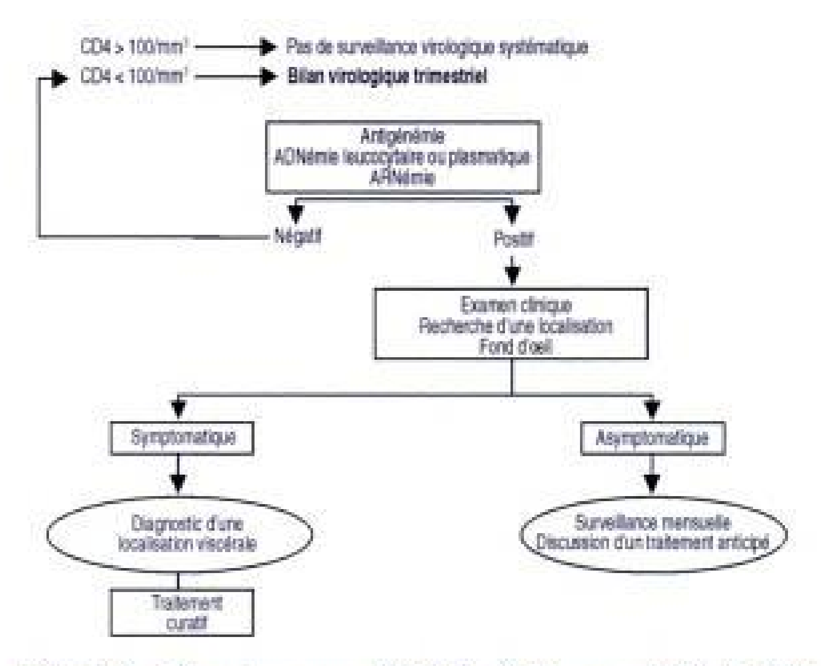


Figure 7. Surveillance des marqueurs de l'infection à CMV au cours de l'infection à VIH.

(figure 7). D'après les résultats de l'étude prospective française Predivir, l'incidence annuelle de maladie à CMV est actuellement de 3,2 % chez les patients ayant moins de 100 lymphocytes T $CD4^+/mm^3$ (ou moins de 200 lymphocytes T $CD4^+$ sous thérapeutique antirétrovirale hautement active). Chez les patients ayant moins de 100 lymphocytes T $CD4^+/mm^3$, une surveillance régulière du fond d'œil à la recherche de signes de rétinite et des marqueurs de l'infection à CMV reste justifiée. La survenue d'une ADNémie plasmatique, d'une antigénémie supérieure à dix cellules positives pour 2×10^5 cellules analysées ou un compte de lymphocytes T $CD4^+$ inférieur à $75/mm^3$ sont des facteurs de risque de maladie à CMV, avec une valeur prédictive à court terme de localisation viscérale de la maladie à CMV dans les 2 mois de près de 40 % pour l'ADNémie plasmatique. L'apparition de marqueurs d'infection active à CMV impose une surveillance mensuelle de leur évolution. La valeur prédictive d'une ADNémie leucocytaire détectée isolément par PCR est médiocre, la quantification est indispensable pour la surveillance de ces patients par cette technique. Une augmentation de 0,5 log_{10} de la charge virale intraleucocytaire, une augmentation rapide de l'antigénémie, l'apparition d'une ADNémie sérique ou plasmatique, sont très en faveur de la survenue prochaine d'une manifestation clinique à CMV et doivent faire entreprendre un traitement anticipé. La virémie et la détection des ARN messagers tardifs sont de bons marqueurs d'une maladie à CMV en cours.

3.7. Diagnostic des localisations viscérales

L'atteinte d'un organe cible s'accompagne fréquemment d'une maladie systémique à CMV *(tableau 2)*. Le diagnostic des localisations viscérales associe donc la recherche du virus dans l'organe atteint, et dans le sang circulant, par toute méthode démontrant l'infection active *(figure 8)*.

Tableau 2. Diagnostic des localisations viscérales de la maladie à CMV. Il est nécessaire de différencier une excrétion virale isolée ou une réactivation locale sans conséquences cliniques de la maladie à CMV ; aussi, chaque fois que possible, l'examen anatomopathologique des tissus doit être pratiqué.

Localisation	Prélèvement	Technique à effectuer
Atteinte du SNC*	LCR	PCR
Atteinte du système nerveux périphérique :		
– polyradiculopathie	LCR	PCR, antigénorachie (+/–)
– mononévrite	LCR (+/–)	PCR (+/–)
Rétinite**	Humeur aqueuse/vitrée (+/–)	PCR
Atteintes digestives	Biopsies	Examen anatomopathologique + cultures virales
Pneumopathie	LBA Biopsie*** chirurgicale ou transbronchique	Examen direct, culture, quantification par PCR, ARNmessagers tardifs ? Examen anatomopathologique, culture ou PCR

*SNC : système nerveux central ; **le diagnostic est essentiellement clinique ; ***la biopsie chirurgicale n'est effectuée qu'en présence d'un problème diagnostique difficile, la biopsie transbronchique est rarement réalisée en dehors du suivi des receveurs de transplantation pulmonaire.

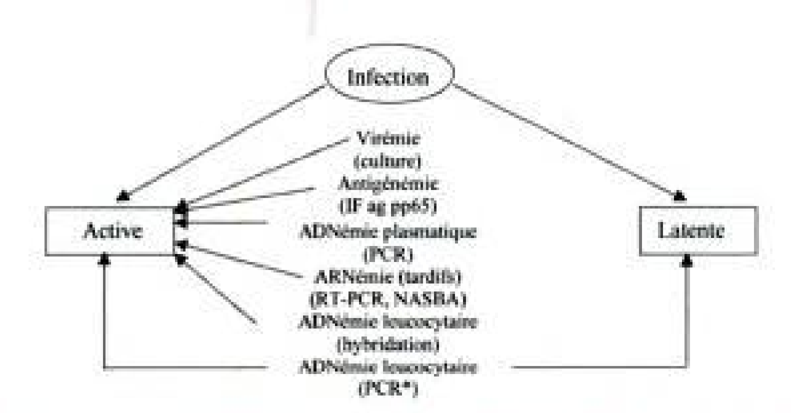


Figure 8. Marqueurs sanguins de l'infection à cytomégalovirus. RT-PCR : PCR après copie des ARN ; NASBA : *nucleic acid sequence based amplification*. IF Ag pp65 : détection de l'antigène pp65 dans les polynucléaires par immunofluorescence indirecte.
*L'infection latente n'est détectée en pratique qu'à l'aide de PCR nichée et souvent uniquement après enrichissement de la fraction mononucléée du sang périphérique.

3.7.1. Atteintes neurologiques

La biopsie cérébrale, prélèvement de référence dans le cas d'encéphalite, est exceptionnellement pratiquée. C'est l'examen du LCR qui apporte les meilleures informations car la mise en évidence du virus ou de ses structures y est associée à l'atteinte neurologique. La mise en évidence du génome par PCR est la

technique de référence, indispensable au diagnostic. Sa sensibilité et sa spécificité sont excellentes dans les encéphalites et les polyradiculopathies. Évaluées dans des cas d'atteintes neurologiques authentifiées par l'examen anatomopathologique des lésions, elles sont respectivement voisines de 90 % et de 94 %. Dans les atteintes périphériques à type de mononévrite, l'ADN viral n'est retrouvé dans le LCR que lorsqu'il existe une atteinte du système nerveux central associée. La mesure de la charge virale par PCR ou ADN branché aurait une valeur diagnostique et pronostique. Une charge virale élevée, jusqu'à 10^7 copies/mL, serait associée aux atteintes extensives de ventriculo-encéphalite. La surveillance de la diminution de la charge virale sous traitement anti-CMV chez les patients très immunodéprimés, en particulier dans les encéphalites, qui répondent mal au traitement antiviral, paraît intéressante. L'isolement viral à partir du LCR, de grande valeur diagnostique, est peu utilisé en raison de sa faible sensibilité. Il n'est obtenu que dans 50 % des polyradiculopathies ou ventriculites, et plus rarement dans les autres manifestations. La sensibilité de la recherche d'antigène pp65 dans les noyaux des polynucléaires dépend du nombre de cellules dans le LCR. Son rendement est faible dans les encéphalites, mais sa sensibilité atteint 91 % lorsque qu'il existe une pléiocytose, en particulier dans les polyradiculopathies où la réaction inflammatoire locale est importante.

3.7.2. Rétinites

Le diagnostic de rétinite est habituellement clinique, devant des lésions caractéristiques à l'examen du fond d'œil. Les examens virologiques sont réservés aux lésions atypiques. Le virus est rarement isolé à partir des prélèvements. Le diagnostic repose sur la mise en évidence du génome viral par PCR dans les échantillons d'humeur aqueuse ou de vitré.

3.7.3. Localisations digestives

Le diagnostic des atteintes digestives peut être difficile. Il repose sur la confrontation des données de l'examen endoscopique avec les résultats de l'examen anatomopathologique et virologique des biopsies. Les résultats dépendent étroitement de la localisation et du nombre des biopsies. Une culture virale positive ou la présence de cellules à inclusions ou d'antigènes viraux en immunocytochimie dans les biopsies sont très évocateurs de la responsabilité du CMV. La mise en évidence du génome viral est d'interprétation plus délicate. Il est parfois difficile de distinguer chez un patient immunodéprimé déjà infecté par le CMV une réactivation virale locale d'une infection productive responsable des manifestations cliniques. En cas de dissémination hématogène, la contamination des prélèvements par du sang peut être à l'origine de faux positifs. La mesure de la charge virale, plus élevée en cas d'infection vraie, pourrait apporter une aide au diagnostic. L'association à des marqueurs sanguins de dissémination virale, ou à une deuxième localisation, est un argument supplémentaire. La disparition des symptômes sous traitement bien conduit est parfois la seule preuve diagnostique.

3.7.4. Localisations pulmonaires

En présence de signes radiologiques de pneumopathie interstitielle, le diagnostic de certitude est obtenu par l'examen anatomopathologique du tissu pulmonaire

démontrant des lésions histologiques caractéristiques (cellules à inclusion associées à une réaction inflammatoire mononucléée). Cependant, la biopsie pulmonaire n'est que rarement réalisée et l'examen anatomopathologique peut être en défaut si le tissu a été prélevé en zone saine. La présence du génome viral détecté par PCR dans les biopsies transbronchiques des transplantés pulmonaires est associée à un risque d'autant plus élevé de survenue de pneumopathie que la PCR se positive précocement (dans les 30 j qui suivent la transplantation) et elle précède de 2 semaines les signes cliniques. En pratique, le plus souvent, le diagnostic de pneumopathie repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et virologiques. L'absence d'un autre agent pathogène, la réponse à un traitement spécifique, voire la présence d'une autre localisation de la maladie à CMV, peuvent également étayer le diagnostic. Les résultats de l'examen du LBA doivent être interprétés en fonction du type d'immunodépression du patient. L'examen direct, d'une grande spécificité chez les receveurs d'allogreffe, est en défaut chez un tiers des receveurs de greffe de moelle au cours de pneumopathies authentiques. La détection d'antigènes manque également de sensibilité. La valeur diagnostique de l'isolement viral à partir du LBA dépend du contexte clinique. Après allogreffe de moelle, il est très fortement associé à la survenue d'une pneumonie interstitielle (risque relatif de 70 %). Chez les autres patients, il importe de différencier excrétion asymptomatique et pneumopathie. La détection qualitative du génome par PCR a une valeur prédictive négative vis-à-vis du diagnostic de pneumopathie de 100 %, mais sa valeur prédictive positive est moindre et variable selon le type de greffe. La quantification du génome aide à différencier les excréteurs de virus des patients porteurs d'une pneumopathie certaine ou probable. La PCR positive à la fin du traitement apparaît être un bon indicateur du risque de rechute. La détection des ARN messagers tardifs dans les cellules du LBA est une approche nouvelle, proposée pour différencier la pneumopathie de l'excrétion virale simple.

4. Conclusion

Le diagnostic de l'infection à CMV fait appel à des méthodes diverses, dont le choix dépend du contexte clinique. Chez la femme enceinte, la question de la nécessité et du rythme d'un dépistage de l'infection à CMV n'est pas résolue, faute d'un traitement efficace. Chez des sujets dont les défenses immunitaires réduites ne permettent pas de juguler naturellement l'infection, la possibilité d'un traitement anticipé *(preemptive)*, dès l'apparition de marqueurs d'infection active, pose un problème diagnostique nouveau, nécessitant d'apprécier la dynamique de l'infection à CMV pour chaque patient. Si la mesure de l'antigénémie est une approche simple et bien maîtrisée, les méthodes de mesure de la charge virale intraleucocytaire, dans le plasma ou dans le sang total, sont nouvelles, et leur place mérite d'être mieux évaluée. L'évolution de la charge virale sous traitement, dans le sang et, en cas de maladie à CMV, au niveau de l'organe atteint (dans le LCR ou le LBA par exemple), pourrait permettre de déceler plus précocement l'échec thérapeutique.

Pour en savoir plus

Barjot P, Jacquemart F, Vabret A, Freymuth F, Guillois B. Diagnostic prénatal de l'infection materno-fœtale à cytomégalovirus : mise au point et conduite à tenir. Ref Gynecol Obstet 2000 ; 7 : 147-62.

Blok MJ, Laustenschlagger I, Goossens VJ, Middeldorp JM, Vink C, Hockerstedt K, Bruggeman CA. Diagnosis implications of human cytomegalovirus immediate early-1 and pp67 mRNA detection in whole-blood samples from liver transplant patients using nucleic acid sequence-based amplification. J Clin Microbiol 2000 ; 38 : 4485-91.

Boeckh M, Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus : Methodologic aspects and clinical applications. Clin Microbiol Rev 1998 ; 11 : 533-54.

Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic C, Gerna G, et al. Diagnosis and clinical management of neurological disorders caused by cytomegalovirus in AIDS patients. J Neurovirol 1998 ; 4 : 120-32.

Colimon R, Minjolle S. Cytomégalovirus : charge virale. Virologie 1997 ; 1 : 45-54.

Emery VC, Sabin CA, Cope AV, Gor D, Hassan-Walker AF, GriffithS PD. Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation. The Lancet 2000 ; 355 : 2032-6.

Ho SK, Li FK, Lai KN, Chan TM. Comparison of the Brite Turbo assay and the Digene Hybrid Capture CMV DNA (version 2.0) assay for quantitation of cytomegalovirus in renal transplant recipients. J Clin Microbiol 2000 ; 38 : 3743-5.

Lazarotto T, Varani S, Gabrielli L, Spezzacatena P, Landini MP. New advances in the diagnostic of congenital cytomegalovirus infection. Intervirology 1999 ; 42 : 390-7.

Minjolle S, Michelet C, Jusselin I, Joannes M, Cartier F, Colimon R. Amplification of the six major human herpesviruses from cerebrospinal fluid by a single PCR. J Clin Microbiol 1999 ; 37 : 950-3.

Najioullah F, Thouvenot D, Lina B. Development of a real-time PCR procedure including an internal control for the measurement of HCMV viral load. J Virol Methods 2001 ; 92 : 55-64.

Nashan B, Luck R, Kliem V, Brunkhorst R, Schlitt HJ, Klempnauer J. CMV in kidney transplantation : a single center experience over 22 years. Clin Transpl 1999 ; 13 : 181-8.

Pellegrin I, Garrigue I, Binquet C, Chene G, Neau D, Bont P, et al. Evaluation of new quantitative assays for diagnosis and monitoring of cytomegalovirus disease in human immunodeficiency virus-positive patients. J Clin Microbiol 1999 ; 3124-32.

Pellegrin I, Garrigue I, Ekouevi D, Couzi L, Merel P, Chene G, et al. New molecular assays to predict occurrence of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. J Infect Dis 2000 ; 182 : 36-42.

Ranger-Rogez S, Venot C, Aubard Y, Denis F, Freymuth F. Cytomégalovirus. In : Denis F, Ed. Les virus transmissibles de la mère à l'enfant. Paris : John Libbey Eurotext ; 1999. p 214-39.

Salmon-Ceron D, Mazeron MC, Chaput S, Boukli N, Sénéchal B, Houhou N, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigeneamia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS 2000 ; 14 : 1041-9.

Schaade L, Kockelkorn P, Ritter K, Kleines M. Detection of cytomegalovirus DNA in human specimens by LightCycler PCR. J Clin Microbiol 2000 ; 38 : 4006-9.

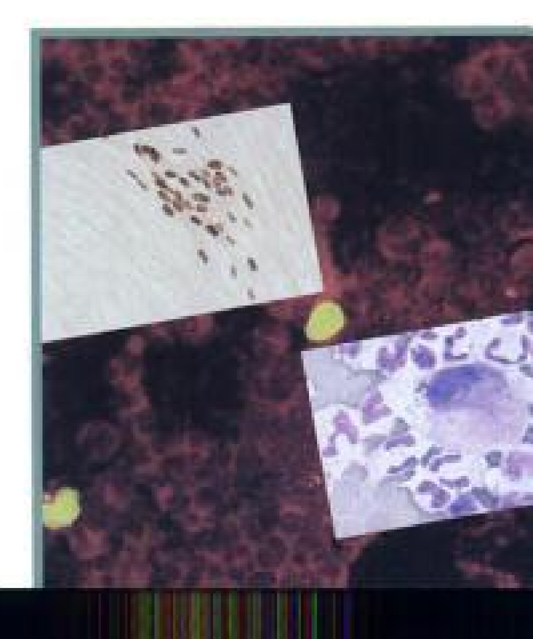
Singh N, Paterson DL, Gayowski T, Wagener MM, Marino IR. Cytomegalovirus antigenemia directed pre-emptive prophylaxis with oral versus IV ganciclovir for the prevention of cytomegalovirus disease in liver transplant recipients : a randomized, controlled trial. Transplantation 2000 ; 70 : 717-22.

Zanghellini F, Boppana SB, Emery V, Griffiths PD, Pass RF. Asymptomatic primary cytomegalovirus infection : virologic and immunologic features. J Infect Dis 1999 ; 180 : 702-7.

Manifestations cliniques de l'infection à cytomégalovirus chez l'immunocompétent

Marie-Caroline Meyohas

- Primo-infection à CMV typique
- Atteintes localisées
- Infections à CMV sévères
- Co-infections
- Traitement de l'infection à CMV
- Diagnostic différentiel
- Conclusion



Malgré sa grande fréquence, puisque la moitié de la population française est concernée, l'infection à cytomégalovirus (CMV) chez l'immunocompétent est très mal connue. Lorsqu'elles existent, les manifestations cliniques correspondent essentiellement à la primo-infection à CMV. Les réactivations avec traduction pathologique sont exceptionnelles chez l'immunocompétent. La primo-infection à CMV chez l'immunocompétent passe souvent inaperçue puisqu'elle est le plus souvent asymptomatique ou se traduit par un syndrome fébrile isolé, spontanément résolutif, alors que 40 à 60 % de la population française possède des anticorps anti-CMV. C'est pourquoi la primo-infection à CMV est reconnue soit lorsqu'il existe une fièvre prolongée, soit lorsqu'il existe des manifestations au niveau d'un ou de plusieurs organes. Différentes équipes dans le monde se sont intéressées à l'infection à CMV chez le sujet immunocompétent *(tableau 1)* alors que les connaissances sur ce virus se sont améliorées du fait de ses manifestations chez l'immunodéprimé. Connaître les principales manifestations cliniques de la primo-infection à CMV *(tableau 2)* permet d'y penser et d'éliminer simplement une autre maladie. Cette démarche permet également d'éviter l'hospitalisation des patients, comme il est signalé dans une étude concernant 116 patients : 42 d'entre eux, soit 36 %, ont pu être pris en charge en ambulatoire. Une antibiothérapie abusive peut aussi être évitée comme cela aurait pu être fait pour 30 % des 82 patients de Horwitz et al. Il n'y a pas de prédominance nette dans la répartition des sexes, bien que certaines études retrouvent une prédominance féminine puisque le ratio homme-femme est compris entre 0,78 et 0,95. L'âge moyen est compris entre 27 ans et 39 ans, ce qui correspond bien aux données épidémiologiques, avec l'augmentation du taux de séropositivité avec l'âge. Les âges extrêmes sont 7 mois et 79 ans.

Probablement 90 % des primo-infections à CMV sont asymptomatiques chez l'adulte sain, compte tenu de la prévalence des anticorps et de l'excrétion prolongée du virus après l'infection aiguë. Les manifestations cliniques, lorsqu'elles existent, vont de la fièvre simple et spontanément régressive jusqu'aux formes graves nécessitant un traitement antiviral et/ou une hospitalisation en réanimation *(voir encadré)*.

Tableau 1. CMV chez l'immunocompétent. Principales séries de la littérature.

	Cohen	Horwitz	Calamy	Knockaert	Ragnaud	Faucher
Année de publication	1985	1986	1988	1992	1994	1998
Année d'études	1977–1983	1971–1985	1970–1982	1979–1991	1981–1992	1981–1997
Lieu	Caroline du Nord	États-Unis	Paris–Orléans	Belgique	Bordeaux	Montpellier
Nombre de patients	62	82	50	16	34	116

Tableau 2. Infection à CMV chez l'immunocompétent.

Primo-infection asymptomatique +++ (90 %)	
Symptomatique :	
– Fièvre prolongée avec	syndrome mononucléosique +++ cytolyse
– Manifestations	
• neurologiques	périphériques centrales
• digestives	hépatique tube digestif
• autres : cutanées cardiovasculaires pulmonaires hématologiques ophtalmologiques	
– Infections graves	

Diagnostic clinique d'une primo-infection à cytomégalovirus

- Fièvre « nue » prolongée
  +
  hyperlymphocytose
  +
  cytolyse hépatique

  → Penser à une primo-infection à CMV

1. Primo-infection à CMV typique

1.1. Fièvre

La fièvre est très fréquente (72 à 100 % selon les séries). Elle est souvent supérieure à 39 °C, plus en plateau que désarticulée *(figure 1)*. C'est surtout sa durée qui est évocatrice. Elle persiste en moyenne pendant 18 j, ce qui est supérieur à la durée de la fièvre dans la mononucléose infectieuse liée à l'EBV (8 à 15 j). Elle peut persister jusqu'à 7 semaines. Cette fièvre est le plus souvent bien tolérée, confrontant le praticien au diagnostic de fièvre prolongée inexpliquée *(encadré)*.

1.2. Signes associés à la fièvre

Les signes les plus fréquemment signalés sont dans la moitié des cas des céphalées, sans caractère particulier, et des myalgies diffuses. Des frissons et des sueurs ne sont notés que dans un tiers des cas. Moins fréquemment, il existe des douleurs pharyngées, des arthralgies, des troubles digestifs à type de douleurs abdominales ou de diarrhée, une toux sèche.

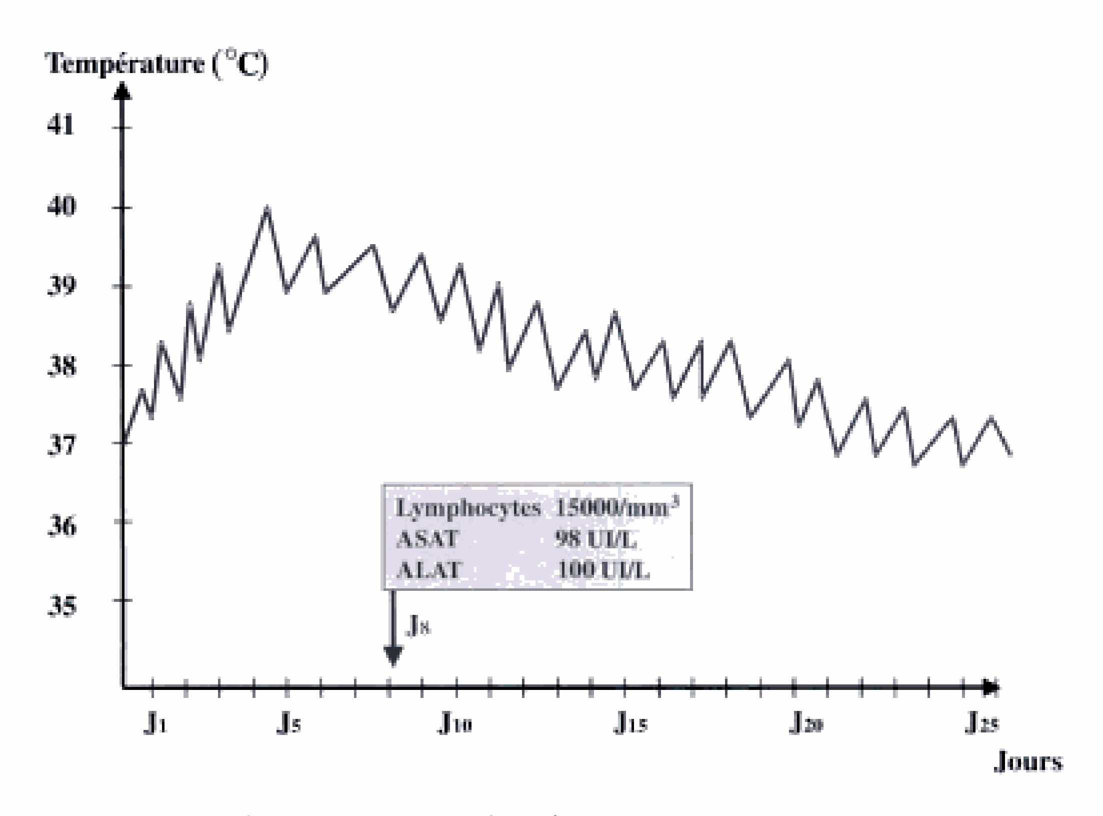


Figure 1. Courbe de température au cours d'une infection à CMV.

1.3. Examen clinique

L'examen clinique est le plus souvent normal. Une splénomégalie est palpée dans un tiers des cas, une hépatomégalie beaucoup plus rarement, exceptionnellement des ganglions infra-centimétriques.
À l'examen de la gorge, une discrète pharyngite peut exister. Une éruption cutanée morbilliforme est notée dans 6 à 30 % des cas soit spontanée, soit favorisée par l'amoxicilline, mais moins fréquemment que dans la mononucléose infectieuse (MNI). L'examen clinique permet donc souvent d'éliminer une MNI car il n'y a pas d'angine vraie, pas d'adénopathies volumineuses.

1.4. Signes d'orientation biologiques

L'élément le plus fréquent et le plus caractéristique est un syndrome mononucléosique. La lymphomonocytose est supérieure à 50 % et il existe des grands lymphocytes hyperbasophiles, témoins de l'activation lymphocytaire *(figure 2)*. Le taux maximal de lymphocytes activés est observé au bout de 2 à 3 semaines. Parmi 750 syndromes mononucléosiques, 11,5 % sont liés à l'infection par le CMV. Le chiffre d'hémoglobine est normal ou peu abaissé, une thrombopénie est souvent associée, de type périphérique, modérée, rarement inférieure à 100 000 plaquettes/mm³.

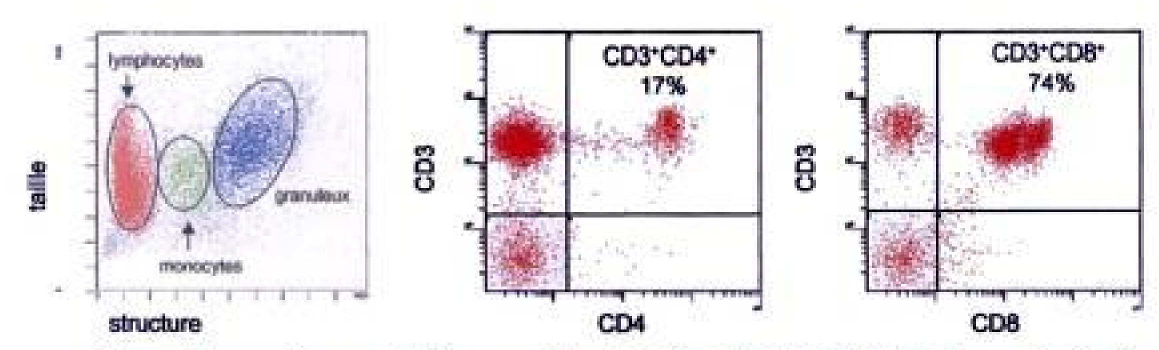


Figure 2. Immunophénotypage réalisé au cours d'une primo-infection à CMV. (DR: Michelle Rosenzwajg et Caroline Peillon).
L'immunotypage différencie nettement les lymphocytes (rouge) des monocytes (vert) des macrophages (bleu) et montre que 81 % des lymphocytes sont des lymphocytes T ($CD3^+$) et qu'il existe une inversion du rapport CD4/CD8 avec 17 % de lymphocytes T $CD4^+$ et 74 % de lymphocytes T $CD8^+$.

À côté du syndrome mononucléosique, l'atteinte biologique hépatique est quasi-constante avec une élévation modérée des transaminases ne dépassant pas dix fois la normale et apparaissant entre le 7e et le 14e jour de la fièvre. La cholestase est moins fréquente. Les hépatites A, B ou C sont éliminées.

D'autres examens biologiques peuvent être pratiqués mais sont de peu de valeur : la protéine C réactive (CRP) peut être discrètement élevée, mais elle permet au moins d'éliminer une infection bactérienne évolutive. D'autres anomalies ont pu être notées : hypergammaglobulinémie, anticorps antinucléaires faiblement positifs, anticoagulants circulant très rarement.

2. Atteintes localisées

Elles peuvent survenir dans le cadre d'un tableau atypique de primo-infection à CMV, mais le plus fréquemment, c'est l'atteinte d'un organe qui est au premier plan.

2.1. Manifestations neurologiques

2.1.1. Atteinte périphérique

Le syndrome de Guillain-Barré (SGB) ou une polyradiculonévrite sans dissociation albuminocytologique sont bien connus (*tableau 3*). Le SGB est lié à une infection à CMV dans 11 à 22 % des cas. Le groupe d'étude hollandais sur les SGB, sur une série de 134 cas, retrouve le CMV comme étiologie chez

Tableau 3. Atteintes neurologiques du CMV chez l'immunocompétent.

- Syndrome de Guillain-Barré
- Encéphalite
- Myélite
- Encéphalomyéloradiculite

20 patients. Ces patients sont plus jeunes, ont un SGB sévère initialement avec une insuffisance respiratoire, une atteinte des nerfs crâniens et une atteinte sensitive plus fréquentes que pour les autres étiologies et une amélioration plus lente. Les différentes études trouvent également une atteinte fréquente des nerfs crâniens, en particulier le nerf facial, puis, par ordre de fréquence, des paires crâniennes X, VI, XII et V. Plusieurs équipes trouvent des anticorps antiganglioside lorsque le SGB est lié au CMV, particulièrement des anti-GM2. Cette donnée est cependant controversée.

2.1.2. Atteinte centrale

L'encéphalite à CMV est rarement diagnostiquée, puisqu'il existe une trentaine de cas signalés dans la littérature. Il s'agit d'un tableau clinique le plus souvent typique d'encéphalite virale, avec troubles de conscience, céphalées, signes de localisation, convulsions. Le LCR est le plus souvent anormal avec une hyperprotéinorachie modérée, une glycorachie normale et une réaction cellulaire à prédominance lymphocytaire. Le virus est probablement directement responsable, puisqu'il a été retrouvé dans le LCR. Plus récemment, la recherche du virus par amplification génique permet un diagnostic plus facile. L'évolution est souvent favorable mais dans un délai variable (une semaine à 15 mois). Le décès peut cependant survenir ou des séquelles peuvent persister. Un traitement antiviral est indiqué dans les encéphalites à CMV même chez l'immunocompétent.

D'autres atteintes neurologiques sont rapportées, comme des méningites sans encéphalite, des rhombencéphalites, des myélites transverses et des myéloradiculites.

2.2. Manifestations digestives

2.2.1. Hépatites

Chez les adultes immunocompétents, l'atteinte hépatique au cours de la primo-infection à CMV est modérée et régressive, essentiellement cytolytique *(tableau 4)*. Si la biopsie est pratiquée, l'hépatite est non spécifique avec des infiltrats inflammatoires de cellules mononucléées dans les zones portales et périportales. La nécrose hépatocytaire est discrète. La recherche d'inclusions à CMV est négative sauf exception. Un cas de nécrose hépatique a conduit un patient au décès.

Tableau 4. Atteintes digestives du CMV chez l'immunocompétent.

Foie	Hépatite cholestasique
Œsophage	Œsophagite ulcérée
Estomac	Gastrite Érosions multiples Ulcères
Grêle	Iléite Entéropathie exsudative
Côlon	Colite ulcéreuse

Il existe cependant des hépatites granulomateuses. Un traitement par ganciclovir a permis la guérison d'un patient.

2.2.2. Atteintes du tube digestif

Le cytomégalovirus a un tropisme particulier pour le tube digestif. Des inclusions à CMV ont été recherchées sur des biopsies du tube digestif entre 1989 et 1996 sur 6 580 endoscopies. Cinquante-quatre biopsies étaient positives dont 17 chez des patients immunocompétents. Toutes les parties du tube digestif peuvent être atteintes.

• L'œsophage : une œsophagite ulcérée avec aspect mucopurulent est décrite chez deux patients, l'un d'entre eux a nécessité un traitement par ganciclovir après 15 jours d'évolution. La guérison s'est alors fait rapidement.

• L'estomac : l'atteinte gastrique est rare. Elle se traduit par un œdème de la muqueuse, des érosions multiples ou des ulcères. Chez l'immunocompétent, l'évolution spontanée peut se faire vers la guérison mais un traitement anti-CMV est souvent nécessaire lorsque les lésions ne régressent pas sous traitement antisécrétoire. L'évolution vers une sténose du pylore a été décrite. Une atteinte gastrique avec hypertrophie de la muqueuse et perte de protéines transitoire est rapportée.

• Le grêle : des ulcérations de l'iléon, responsable de saignements digestifs ont été décrites récemment. Probablement l'atteinte du grêle survient-elle surtout dans le contexte d'une entérocolite.

• Le côlon : c'est la cible digestive préférentielle du CMV. Une dizaine de cas avaient été décrits dans la littérature. Deux études parues plus récemment ont rapporté chez deux patients un tableau de colite ulcéreuse et chez dix patients (neuf femmes et un homme) entre 1989 et 1996, d'âge moyen de 70 ans, une diarrhée sanglante. Dans cette dernière série, les ulcérations colorectales étaient l'aspect prédominant. Des complications locales consistent en une fistule recto-vaginale chez deux patientes, et une sténose rectale chez un patient.

• Le rectum : l'atteinte rectale est soit associée à l'atteinte colique, soit isolée.

2.3. Manifestations cardiovasculaires

Les manifestations cardiaques sont essentiellement les myocardites, qui représentent 6 % des cas des 62 patients décrits par Cohen. La myocardite est le plus souvent manifestée par une inversion des ondes T, régressive en 3 à 6 semaines. Mais des myocardites mortelles ont été décrites chez un enfant et deux adultes. Ces patients avaient une défaillance cardiaque dans le cadre d'une infection multiviscérale à CMV. La péricardite est exceptionnelle chez l'immunocompétent. La relation entre infection à CMV et athérosclérose est une question d'actualité. Une étude américaine a soulevé ce problème en suggérant que le CMV pouvait se réactiver périodiquement dans la paroi artérielle. Ceci est renforcé par le fait que les patients transplantés cardiaques peuvent développer une athérosclérose. Mais deux études ne confirment pas cette hypothèse. En effet, une étude allemande cas-témoin (patients avec une sténose coronaire de plus de 50 % et donneurs de sang) ne met pas en évidence de différence significative entre les patients ayant ou non des anticorps anti-CMV, comme l'avait également suggéré une étude américaine utilisant l'angiographie.

2.4. Manifestations pulmonaires

Une toux sèche est observée dans 30 % de 116 cas de Faucher, une pneumopathie est décrite dans 6 % des 62 cas de Cohen. Il s'agit essentiellement d'infiltrats réticulonodulaires à la radiographie, à prédominance basale. Une ventilation mécanique a été nécessaire dans une seule observation. La radiographie pulmonaire s'améliore en 5 semaines.

2.5. Manifestations hématologiques

Les deux complications les plus fréquentes sont la thrombopénie et l'anémie hémolytique. Une thrombopénie inférieure à 100 000 copies/mm^3 est décrite dans une observation sur 34, 2 sur 50, 3 sur 82. La thrombopénie est très rarement responsable de signes hémorragiques. Une corticothérapie a été prescrite et était efficace dans deux cas. Dans le troisième cas, une splénectomie a dû être réalisée pour normaliser les plaquettes.

L'anémie hémolytique est rare et peut accompagner la thrombopénie. Elle s'accompagne alors d'une splénomégalie, d'un ictère et plus rarement d'une hépatomégalie. Le test de Coombs n'est pas toujours positif.

Enfin, un hématome sous-capsulaire de la rate nécessitant une splénectomie a également été décrit. L'infarctus splénique est exceptionnel ainsi que la rupture de rate.

2.6. Manifestations dermatologiques

Le « rash » cutané de type morbilliforme ou rubéoliforme survient avec une fréquence variable selon les séries : 6 %, 8,5 %, 20 %, 21 %, 31 %. L'éruption peut être généralisée ou localisée, touchant plutôt les membres inférieurs. Comme pour la mononucléose infectieuse liée à l'EBV, l'amoxicilline peut induire ces éruptions mais pas de manière aussi fréquente. Cette éruption cutanée maculopapuleuse généralisée apparaît en règle 7 à 9 j après le traitement par pénicilline A et persiste 5 à 8 j mais 2 des 23 patients de Klemola ne recevant pas d'antibiotiques avaient une éruption.

La physiopathologie de cette éruption est discutée. Elle peut être indicative d'une réponse immunologique au CMV. Le CMV pourrait amplifier l'éruption liée aux médicaments induite par l'activation de cellules T spécifiques de l'antibiotique. Mais ceci reste à démontrer.

Un purpura peut être observé dans le cadre des thrombopénies. Un cas d'épidermolyse a été décrit survenant 8 semaines après une hépatite et s'accompagnant d'une virémie et d'une virurie à CMV.

Des lésions dermatologiques typiques de pellagre ont été décrites récemment chez un patient de 50 ans, se présentant avec une glossite associée à des lésions érythémateuses avec desquamation des quatre extrémités alors qu'il avait une entérocolite à CMV régressant sous niacine.

2.7. Manifestations ophtalmologiques

Chez l'immunocompétent, les manifestations oculaires sont exceptionnelles. Deux rétinites ont été décrites, une uvéite ayant conduit à une énucléation et à

une choriorétinite. Trois conjonctivites liées au CMV sont également décrites, l'une avec isolement du virus dans le prélèvement conjonctival.

3. Infections à CMV sévères

Les infections à CMV graves chez l'immunocompétent ont été décrites chez une quarantaine de patients. Eddleston et al. ont repris les données de la littérature avec 34 cas. Lorsqu'il s'agit d'une atteinte multiviscérale, le taux de mortalité est important. Le pronostic n'est pas toujours bon s'il s'agit d'une atteinte grave hépatique ou pulmonaire. Mais les patients présentant une forme isolée du système nerveux central ont un meilleur pronostic. Le pronostic, en fait, est surtout lié au traitement précoce, mettant en évidence l'importance d'un diagnostic précoce. Lorsque le ganciclovir ou le foscarnet ont pu être utilisés précocement, l'évolution a été favorable.

Une étude a été pratiquée en réanimation concernant 56 patients graves (chirurgie lourde ou traumatologique), avec un score SAPS II > 40 points, porteurs d'anticorps anti-CMV. Vingt malades développent une infection active à CMV diagnostiquée par la détection de l'ADN du CMV soit dans les leucocytes, soit dans le plasma, soit dans les sécrétions respiratoires. Une infection sévère à CMV se développe chez deux patients, responsable d'une pneumopathie d'une part, d'une encéphalite d'autre part. Le facteur prédictif principal est le sepsis. Ceci pose le problème plus large de la réactivation du CMV, même chez les sujets immunocompétents, et de sa signification clinique.

4. Co-infections

Une primo-infection à CMV peut être associée à une primo-infection par le virus de l'immunodépression humaine (VIH). Plusieurs cas sont décrits dans la littérature, dont un cas chez une jeune femme ayant une fièvre prolongée inexpliquée et une thrombophlébite cérébrale.

5. Traitement de l'infection à CMV

Le ganciclovir et le foscarnet sont recommandés pour le traitement de l'infection à CMV chez l'immunodéprimé. Mais il n'existe pas de recommandations concernant le traitement chez l'immunocompétent. La prudence est alors de mise devant ces médicaments qui peuvent être toxiques. En effet, le ganciclovir peut entraîner une neutropénie (surtout) ou une thrombopénie. Le foscarnet a une toxicité surtout rénale. Mais ces patients non immunodéprimés n'ont pas d'autres traitements associés en règle et ont une fonction rénale normale. Si ces médicaments ne sont pas systématiquement utilisés, c'est probablement aussi, en dehors de l'absence d'AMM dans cette indication, parce que le diagnostic est parfois très tardif ou que l'évolution spontanée favorable est le plus probable.

Dans l'étude d'Eddeston et al. concernant les formes sévères, cinq des six patients recevant un traitement spécifique anti-CMV survivent contre seulement quatre sur les dix-huit qui n'ont pas reçu de traitement. Les progrès récents

concernant la mise en évidence de l'infection à CMV permettent maintenant un diagnostic plus précoce, avant que l'état du patient ne soit trop grave. Ceci devrait favoriser un traitement plus précoce si nécessaire.
L'indication du traitement reste cependant à être fixée.
L'évaluation du risque du traitement par rapport à son bénéfice reste fondamentale. Les primo-infections à CMV se traduisant par une fièvre prolongée sans manifestations viscérales avec conservation de l'état général, formes les plus fréquentes, ne devraient pas conduire à un traitement spécifique. En revanche, les formes sévères, le plus souvent liées à une atteinte d'organe (tube digestif, système nerveux central, myocardite, thrombopénie sévère ou anémie hémolytique, œil…), devraient faire peser le pour et le contre de la mise en route d'un traitement par ganciclovir ou foscarnet. Plusieurs observations témoignent de l'efficacité du traitement dans les atteintes digestives : amélioration rapide d'un patient ayant une hépatite cholestasique grave, d'une patiente avec une œsophagite ne s'améliorant pas spontanément, de deux patients présentant des ulcérations gastriques ne cédant pas sous traitement non spécifique, d'une entérocolite avec perte de protéine. Mais des observations signalent aussi des guérisons spontanées de colite simple, de gastropathie.
La même question se pose pour l'atteinte neurologique : régression d'une myéloradiculite sous foscarnet chez une femme enceinte, d'une myélite sous ganciclovir chez un patient de 54 ans, d'une rhombencéphalomyélite sous ganciclovir chez un patient de 31 ans. Mais on sait par ailleurs que la plupart des encéphalites à CMV chez l'immunocompétent régressent spontanément. Le risque de décès ou de séquelles étant cependant non négligeable, la mise en route d'un traitement spécifique est probablement raisonnable.
Une question difficile et fréquente est celle du traitement des infections à CMV « banales » avec cytolyse hépatique importante. Une surveillance rapprochée est nécessaire.
En pratique, la décision est prise au cas par cas.

6. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel d'une infection à CMV chez l'immunocompétent est souvent difficile. L'orientation diagnostique relève de l'examen clinique et d'examens biologiques simples : fièvre prolongée isolée et bien tolérée, syndrome mononucléosique, CRP modérément élevée et cytolyse hépatique. Le diagnostic est apporté par la présence d'IgM anti-CMV. L'évaluation de l'antigénémie leucocytaire en ville n'est pas forcément facile. L'absence de syndrome mononucléosique ne permet cependant pas d'éliminer le diagnostic car il est parfois retardé ou transitoire. Et le praticien est alors confronté au diagnostic difficile d'une fièvre inexpliquée, d'une hépatite virale, d'une leucémie, d'une maladie systémique, d'une anémie hémolytique.
La survenue d'une atteinte d'organe complique encore la démarche diagnostique.

7. Conclusion

Les manifestations cliniques de l'infection à CMV chez l'immunocompétent sont faciles à reconnaître dans la majorité des cas devant une fièvre prolongée isolée avec syndrome mononucléosidique et cytolyse hépatique. Cette symptomatologie doit conduire le praticien à réaliser une sérologie CMV avec recherche d'IgM permettant d'établir le diagnostic. Cette démarche permet d'éliminer d'autres étiologies plus graves qui auraient demandé des examens complémentaires plus agressifs ainsi que d'éviter une antibiothérapie abusive. La mise en évidence directe du virus se discute surtout en milieu hospitalier.

Pour en savoir plus

Adam E, Melnick JL, Debakey ME. Cytomegalovirus infection and atherosclerosis. Cent Eur J Public Health 1997 ; 5 : 99-106.

Adler SP, Hur JC, Wang JB, Vetrovec GW. Prior infection with cytomegalovirus is not a major risk factor for angiographically demonstrated coronary artery atherosclerosis. J Infect Dis1998 ; 177 : 209-12.

Alkat BK, Bhattacharka T, Datta DV. Giant cell hepatitis with CMV inclusions in an adult. J Assoc Phys India 1974 ; 22 : 63-6.

Alla P, De Jaureguiberry JP, Legier HP, Valance J, Jaubert D. Cytomegalovirus myeloradiculitis in pregrancy. Rev Med Interne 1999 ; 20 : 514-6.

Arribas JE, Storch GA, Clifford DB, Tselis AC. Cytomegalovirus encephalitis. Ann Intern Med 1996 ; 125 : 577-587.

Benchari L, Cathebras P, Bouchou K, Gouilloud C, Fichtuer C, Rousset H. Exsudative gastroenteropathy revealing primary CMV infection in an immunocompetent adult. Rev Med Interne 1998 ; 19 : 288-90.

Bentata-Pessayre D, Beaugrand M, Callard P. Les hépatites granulomateuses au cours des infections à cytomegalovirus chez l'adulte sain. Ann Med Interne 1987 ; 138 : 353-7.

Boucquey D, Sindic CJM, Lamy M. Clinical and serological in a series of 45 patients with the Guillain-Barré syndrome. J Neurol Sci 1991 ; 104 : 56-63.

Calamy G, Mille C, Barthez JP. Les infections à cytomégalovirus chez le sujet sain. Med Mal Inf 1988 ; 18 : 33-41.

Causay JQ. Spontaneous cytomegalovirus mononucleosis-like syndrome and aseptic meningitis. South Med J, 1976 ; 69 : 1384-6.

Chanarin I, Walford DM. Thrombocytopenic purpura cytomegalovirus mononucleosis. Lancet 1972 ; ii : 238-9.

Chawla HB, Ford MJ, Munro JF, Scorgie RE, Watson AR. Ocular involvment in cytomegalovirus infection in a previously healthy adult. Br Med J 1976 ; 2 : 281-3.

Choi SW, Chung JP, Song YF, Park YN, Chu JF, Kim DJ, et al. Lower gastrointestinal bleeding due to cytomegalovirus ileal ulcers in an immunocompetent man. Yonsei Med J 2001 ; 42 : 147-51.

Clarke J, Craig R, Saffro R, Murphy P, Yokoo H. Cytomegalovirus granulomatous hepatitis. Am J Med 1979 ; 66 : 264-70.

Cohen J, Corey GR. Cytomegalovirus infection in the normal host. Medicine 1985 ; 64 : 100-14.

De la Serna-Higuera C, Gonzales-Garcia M, Milicua JM, Munoz V. Acute cholestatic hepatitis by cytomegalovirus in an immunocompetent patient resolved with ganciclovir. J Clin Gastroenterol 1999 ; 29 : 276-9.

Dietz A. Cytomegalovirus infection with carditis, hepatitits and anemia. Post Grad Med 1981, 70 : 203-7.

Dor JF, Arland J, Chambourlier P, Mongin M. Purpura thrombopénique révélateur d'une maladie à inclusions cytomégaliques chez l'adulte. Nouv Presse Med 1977 ; 6 : 2441-2.

Dowling PC, Cook SD. Role of infection in Guillain-Barré syndrome : laboratory confirmation of herpesvirus in 41 cases. Ann Neurol 1981 ; 9 (suppl.) : 44-55.

Eddleston M, Peacock S, Juniper M, Warrell DA. Severe cytomegalovirus infection in immunocompetent patients. Clin Infect Dis 1997 ; 24 : 52-6.

Faucher JF, Abraham B, Segondy M, Jonquet O, Reynes J, Janbon F. Cytomegalovirose acquise de l'adulte immunocompétent.116 observations. Presse Med 1998 ; 27 : 1774-9.

Ferriby D, Defebvre L, Soto-Ares G, Destee A. Cytomegalovirus rhombencephalomyelitis in an immunocompetent subject. Rev Neurol 2001 ; 157 : 222-4.

Foerster HW. Pathology of granulomatous uveitis. Surv Ophtalmol 1959 ; 4 : 283-5.

Fox LM, Gerber MA, Penix L, Ricci A, Hyams JS. Intractable diarrhea from cytomegalovirus enterocolitis in an immunocompetent infant. Pediatrics 1999 ; 103 : E10.

Garau J, Kabins S, De Nosaque S, Lee G, Keller R. Spontaneous cytomegalovirus mononucleosis with conjunctivitis. Arch Intern Med 1977 ; 137 : 1631-2.

Giobbia M, Carniato A, Scotton PG, Marchiori GC, Vaglia A. Cytomegalovirus-associated transverse myelitis in non immunocompromised patient. Infection 1999 ; 27 : 228-30.

Harris A, Myer RJ, Brody EA. Cytomegalovirus induced thrombocytopenia and hemolysis. Ann Intern Med 1975 ; 83 : 670-1.

Heininger A, Jahn G, Engel C, Notheisen T, Unerti K, Hamprecht K. Human cytomegalovirus infection in non immunosuppressed critically ill patient. Crit Care Med 2001 ; 29 : 541-7.

Horwitz CA, Henle W, Henle G, Snover D, Rudnick H, Balfour HH, et al. Clinical and laboratory evaluation of cytomegalovirus induced mononucleosis in previously healthy individuals. Report of 82 cases. Medicine 1986 ; 65 : 124-34.

Irie S, Saïto T, Nakamura K, Kanazawa N, Ogino M, Nukazowa T, et al. Association of anti-GM2 antibodies in Guillain-Barré syndrome with acute cytomegalovirus infection. J Neuroimmunol 1996 ; 68 : 19-26.

Jacobs BC, Van Doorn PA, Groeneveld JH, Tio-Gillen AP, Van der Meche FG. Cytomegalovirus infections and anti-GM2 antibodies in Guillain-Barré syndrome. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1997 ; 62 : 641-3.

Jordan MC, Rousseau WE, Stewart J A, Noble GR, Chin TDY. Spontaneous cytomegalovirus mononucleosis. Ann Intern Med 1973 ; 379 : 153-60.

Kano Y, Shiohara T. Current understanding of cytomegalovirus infection in immunocompetent individuals. J Dermatol Sci 2000 ; 22 : 196-204.

Khalili-Shirazi A, Gregson H, Gray I, Rees J, Winer J, Hughes R. Antiganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome after a recent cytomegalovirus infection. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1999 ; 66 : 376-9.

Klemola E. Hypersensitivity reactions to ampicillin in cytomegalovirus mononucleosis. Scand J Infect Dis 1970 ; 2 : 29-31.

Klemola E, Stenstrom R, Von Essen R. Pneumonia as a clinical manifestation of cytomegalovirus infection in previously healthy adults. Scand J Infect Dis 1972 ; 4 : 7-10.

Knockaert DC, Van den Bruel AA, Goubau PF, Bobbaers HJ. Cytomegalovirus infection in immunocompetent adults. EJM 1992 ; 1 : 434-6.

Kraus M, Meyenberger C, Suter W. Generalized intestinal CMV infection with protein-losing syndrom in ulcerative colitis. Schweiz Med Wochenschr 2000 ; 130 : 1600-5.

Lu JY, Yu CL, Wu MZ. Pellagra in an immunocompetent patient with cytomegalovirus colitis. Am J Gastroenterol 2001 ; 96 : 932-5.

Meyohas MC, Roulet E, Rouzioux C, Aymard D, Pelosse B, Eliaszewicz M, Frottier J. Cerebral venous thrombosis associated with dual primary infection with human immunodeficiency virus and cytomegalovirus. J Neurol Neurosurg Ps 1989 ; 52 : 1010-1.

Muller-Stamou A, Senn HJ, Emody G. Epidermolysis in a case of severe cytomegalovirus infection. Br Med J 1974 ; 3 : 609-10.

Ng FH, Chau TN, Cheung TC, Kng C, Wong SY, Ng WF, et al. Cytomegalovirus colitis in individuals without apparent cause of immunodeficiency. Dig Dis Sci 1999 ; 44 : 945-52.

Patra S, Samal SC, Chacko A, Mathan VI, Mathan MM. Cytomegalovirus infection of the human gastrointestinal tract. J Gastroenterol Hepatol 1999 ; 14 : 973-6.

Phillips CA, Fanning WL, Guim D, Phillips CF. Cytomegalovirus encephalitis in immunologically normal adults. JAMA 1977 ; 238 : 2299-301.

Prosch S, Schielke E, Reip A, Meisel H, Volk HD, Einhaupl KM, Kruger DH. Human cytomegalovirus (HCMV) encephalitis in an immunocompetent young person and diagnostic reliability of HCMV DNA PCR using cerebrospinal fluid of non immunosuppressed patients. J Clin Microbiol 1998 ; 36 : 3636-40.

Rachima C, Maoz E, Apter S, Thaler M, Grossman E, Rosenthal T. Cytomegalovirus infection associated with ulcerative colitis in immunocompetent individuals. Postgrad Med J 1998 ; 74 : 486-9.

Ragnaud JM, Morlat P, Gin H, Dupon M, Delafaye C, Du Pasquier P, Aubertin J. Aspects cliniques, biologiques et évolutifs de l'infection à cytomégalovirus chez le sujet immunocompétent : à propos de 34 cas hospitalisés. Rev Med Interne 1994 ; 15 : 13-8.

Rothenbacher D, Hoffmeister A, Bode G, Wanner P, Koenig W, Brenner H. Cytomegalovirus infection and coronary heart disease : results of a german case-control study. J Infect Dis 1999 ; 179 : 690-2.

Salloum E, Lundberg WB. Hemolytic anemia with positive direct antiglobulin test secondary to spontaneous cytomegalovirus infection in healthy adults. Acta Haematol 1994 ; 92 : 39-41.

Schmitz H, Enders G. Cytomegalovirus as a frequent cause of Guillain-Barré syndrome. J Med Virol 1977 ; 1 : 21-7.

Shusterman NH, Frauenhoffer C, Kinsey MD. Fatal massive hepatic necrosis in cytomegalovirus mononucleosis. Ann Intern Med 1978, 88 : 810-3.

Studhal M, Ricksen A, Sandberg T. Cytomegalovirus encephalitis in four immunocompetent patients. Lancet 1992 ; 340 : 1045-6.

Suter WR, Nenweiler J, Borovicka J, Binek J, Fantin AC, Meyenberger C. Cytomegalovirus-induced transient protein-losing hypertrophic gastropathy in an immunocompetent adult. Digestion 2000 ; 62 : 276-9.

Tiulla E, Leinikki P. Fatal cytomegalovirus infection in previously healthy boy with myocarditis and consumption coagulopathy as presenting signs. Scan J Infect Dis 1972 ; 4 : 57-60.

Venkataramani A, Schlueter AJ, Spec TJ, Greenberg E. Cytomegalovirus esophagitis in an immunocompetent host. Gastrointestinal Endoscopy 1994 ; 40 : 392-3.

Vergara M, Herrero I, de Torres I, Armengol JR, Saperas E, Malagelada JR. Gastric ulcers as the only manifestation of infection by cytomegalovirus in immunocompetent patients. Gastroenterol Hepatol 1998 ; 21 : 332-4.

Villar LA, Massanari RM, Mitros FA. Cytomegalovirus infection with acute erosive esophagitis. Ann J Med 1984 ; 76 : 924-8.

Visser LH, Van der Meche FG, Meulstee J, Rothbarth PP, Jacobs BC, Schmitz PI, Van Doorn PA. Cytomegalovirus Infection and Guillain-Barré syndrome : the clinical, electrophysiologic and prognostic features. Dutch Guillain-Barré Study Group. Neurology 1996 ; 47 : 668-73.

Waris E, Rasanen P, Kreus KE. Fatal cytomegalovirus disease in a previously healthy adult. Scand J Infect Dis 1972 ; 4 : 61-7.

Wink K, Schmitz H. Cytomegalovirus myocarditis. Am Heart J 1980 ; 100 : 667-72.

Yuki N, Tagawa Y. Acute cytomegalovirus and IgM anti-GM2 antibody. J Neurol Sci 1998 ; 154 : 14-7.

et géographiques, on sait que la séroprévalence est liée au niveau-socio-économique : elle est d'autant plus élevée que celui-ci est bas. Enfin, la séroprévalence s'élève avec l'âge et la parité. Sachant que l'infection à CMV est rapidement disséminée dans les collectivités d'enfants en bas âge, en raison de l'excrétion prolongée et massive du virus par les porteurs, on peut faire l'hypothèse que l'acquisition à l'âge adulte de l'infection à CMV est le plus souvent secondaire à une transmission aux parents par leurs enfants infectés. En effet, les mères séronégatives ayant un enfant infecté par le CMV ont un risque 20 fois plus élevé que les autres d'être à leur tour infectées, et la moitié d'entre elles acquièrent l'infection dans l'année qui suit celle de leur enfant.

1.2. Incidence de la primo-infection chez la femme enceinte

L'incidence de la primo-infection à CMV en cours de grossesse se situe entre 1 et 2 %, avec des valeurs extrêmes allant de 0,2 à 4 % *(tableau 2)*. L'étude française collaborative montre une incidence de primo-infection en cours de grossesse de 1,4 %. Quelques auteurs ont montré une variation significative de cette incidence en fonction du niveau socio-économique : bien que les femmes porteuses d'anticorps CMV en début de grossesses (donc « protégées ») soient plus nombreuses dans les milieux à faible niveau économique, les primo-infections à CMV y sont plus fréquentes car le risque d'exposition au virus y est globalement plus élevé.

1.3. Taux de transmission au fœtus

Le passage transplacentaire du CMV est consécutif soit à une primo-infection maternelle, soit à une infection secondaire (réactivation ou réinfection). La plupart des études de la littérature ont évalué le risque de transmission fœtale faisant suite à une primo-infection de la femme enceinte, en raison de la gravité potentielle des conséquences chez le fœtus. Dans cette situation, le taux de contamination fœtale est compris entre 25 et 50 %, tous termes confondus. Le taux d'infection transplacentaire est identique dans les différentes populations étudiées. Le passage transplacentaire, considéré comme stable tout au long de la grossesse selon une étude ancienne, s'élèverait au cours du troisième trimestre de la grossesse d'après une étude plus récente. L'étude prospective française a

Tableau 2. Épidémiologie de l'infection à CMV maternofœtale.

Incidence de l'infection congénitale	1 %
Incidence de la PI en cours de grossesse	1–2 %
Transmission maternofœtale en cours de PI	25–50 %
Incidence des formes symptomatiques :	10 %
– formes fatales	20–30 %
– séquelles majeures	70–80 %
Incidence des formes asymptomatiques :	90 %
– séquelles mineures	15 %

PI : primo-infection.

identifié 29 cas d'infection congénitale parmi 95 enfants nés de femmes ayant une séroconversion confirmée, soit un taux de transmission de 30,5 %.
La possibilité d'infection maternofœtale à CMV survenant chez des femmes porteuses d'anticorps en début de grossesse est bien documentée, mais le taux de transmission est beaucoup plus faible qu'au décours d'une primo-infection : il serait inférieur à 5 %. Bien que d'exceptionnelles infections congénitales sévères aient été décrites dans ces conditions, les conséquences pour le fœtus sont le plus souvent bénignes, car les anticorps maternels transmis au fœtus ont un rôle protecteur. Dans la plupart des cas, l'infection fœtale fait suite à une réactivation du virus présent chez la mère avant la grossesse, comme le montre l'analyse génotypique des souches de CMV isolées chez les mères et leurs nouveau-nés infectés. Les transmissions fœtales consécutives à une réinfection de la mère par une souche exogène sont plus rares, mais elles seraient associées aux formes symptomatiques.

2. Physiopathogénie de l'infection maternofœtale

Le mode exact de transmission du CMV au cours de la grossesse est mal connu, et on ne connaît presque rien des facteurs déterminant la pathogenèse de l'infection fœtale. La plupart des données disponibles sont issues de travaux expérimentaux qui suggèrent que l'infection placentaire précède l'infection du fœtus, et que le placenta protège (imparfaitement) celui-ci de l'infection virale. En effet, l'infection fœtale est toujours accompagnée d'une infection placentaire ; en revanche, il existe des observations cliniques et des modèles animaux d'infection placentaire sans infection fœtale. La littérature rapporte des cas d'infection par le CMV chez un seul de deux jumeaux dizygotes, ou avec une extension des lésions différente chez des jumeaux, ou des quadruplés ! Chez l'animal, l'infection placentaire succède à la virémie maternelle ; le virus se multiplie dans le placenta longtemps après la disparition de la virémie, et les titres viraux s'y élèvent en fin de gestation malgré la présence des anticorps chez la femelle gestante. Les cellules placentaires infectées ont été identifiées par des méthodes immunohistochimiques : il s'agit des cellules du conjonctif, des cellules endothéliales, des macrophages. In vitro, les cellules trophoblastiques, à l'interface entre la circulation maternelle et fœtale, sont également permissives à un cycle de réplication complet par le CMV. À partir du placenta, le fœtus serait contaminé soit par voie hématogène, soit par ingestion de cellules amniotiques infectées. Le principal organe fœtal répliquant le virus est le rein, et l'urine fœtale constitue la source de virus détectable dans le liquide amniotique.
On peut supposer que des facteurs d'hôte et des facteurs viraux (qualitatifs et/ou quantitatifs) déterminent les conséquences de l'infection. Du côté de l'hôte, une susceptibilité génétique opérant à la fois au niveau maternel (barrière placentaire) et au niveau fœtal a été montrée dans un modèle d'infection murine à CMV, ce qui laisse envisager l'existence de facteurs homologues chez l'homme. Du côté du virus, l'étude des génotypes des souches de CMV associées aux infections congénitales humaines ne montre pas de prépondérance significative d'un des variants dans les formes sévères. En revanche, l'intensité et la durée de la virémie maternelle seraient déterminantes pour l'infection placentaire puis fœtale chez l'animal.

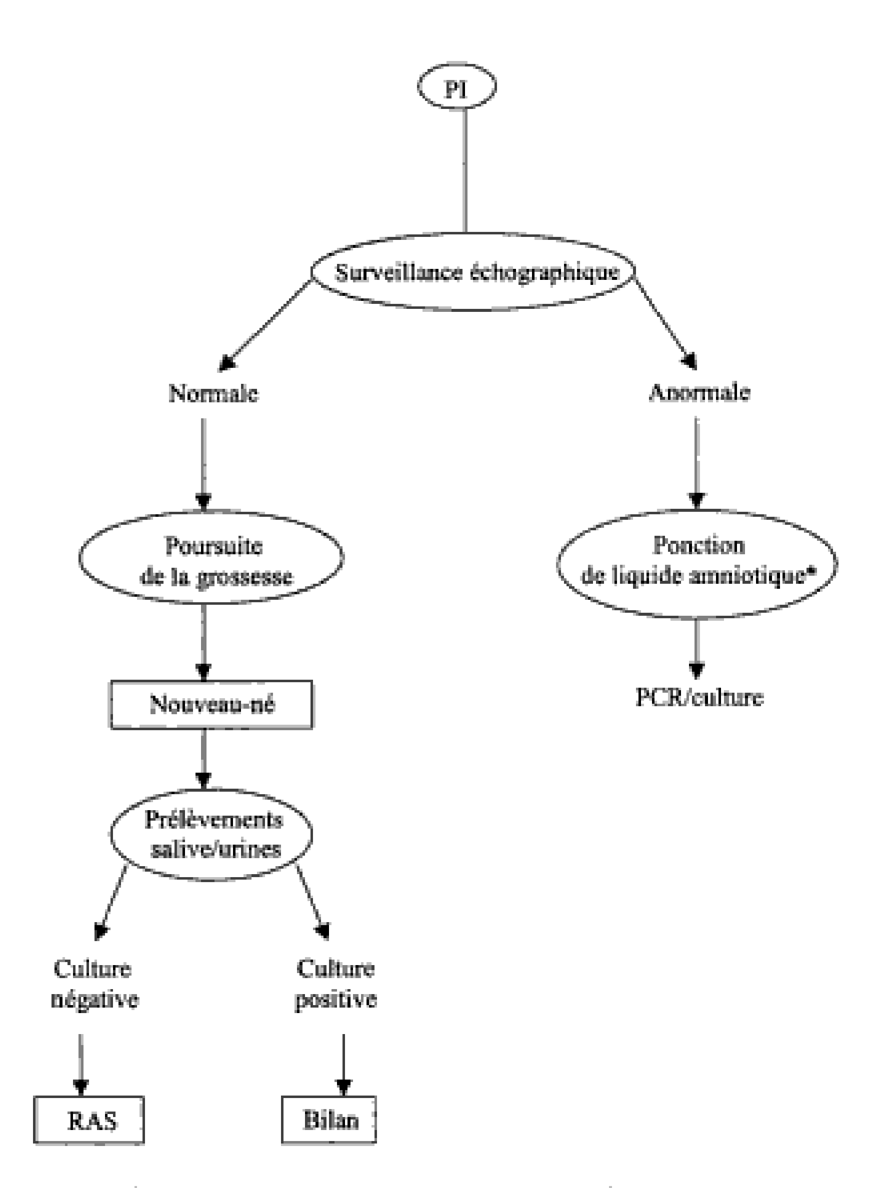


Figure 1. Conduite à tenir devant une séroconversion à CMV en cours de grossesse.
PI : primo-infection.
*À effectuer après négativation de la virémie maternelle, au moins 4 semaines après la séroconversion, après 22 semaines de grossesse.

dépistées lors de la surveillance échographique classique de la grossesse, est ainsi devenue la principale circonstance de découverte de l'infection à CMV *(tableau 4)*. Les signes devant faire systématiquement évoquer le CMV sont nombreux. Certains sont aspécifiques, comme un retard de croissance intra-utérin, un oligoamnios ou un hydramnios, une hyperéchogénicité des anses intestinales, un iléus pseudo-méconial, des calcifications hépatiques, une hépatosplénomégalie, un anasarque, une ascite ou un épanchement pleural ou péricardique isolé. Dans certains cas, l'épanchement pleural ou l'ascite disparaît

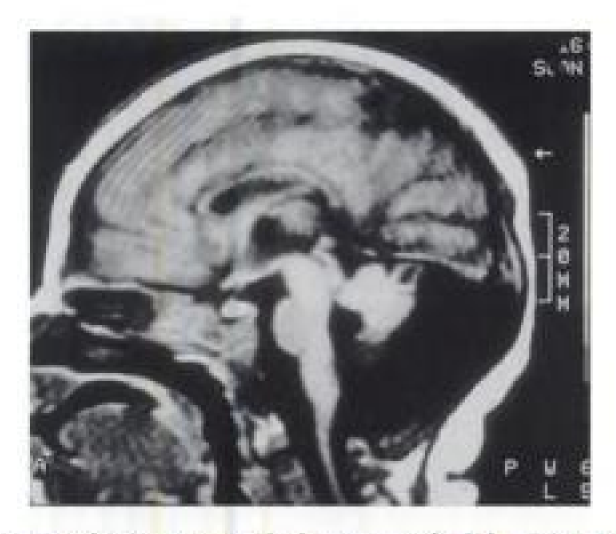


Figure 3. Infection congénitale à CMV. IRM cérébrale avec anomalie de la gyration et hypoplasie du cervelet (photographie fournie par le Dr ML Moutard).

du LA qui ne doit pas avoir été congelé au préalable. Le virus y est constamment isolé au stade des lésions échographiques fœtales. En revanche, si cet examen est effectué en raison d'une infection maternelle mais en l'absence de signes échographiques, un résultat de culture négatif peut être faussement rassurant, comme cela a été rapporté quelquefois. En effet, le moment exact où le CMV franchit la barrière placentaire est mal connu. Il semble se situer dans un intervalle variable compris entre 2 et 12 semaines après la primo-infection maternelle ; c'est pourquoi on propose habituellement de pratiquer le prélèvement de liquide amniotique après un délai de 4 semaines au minimum après la séroconversion. Par ailleurs, on attend la disparition de la virémie CMV maternelle avant d'effectuer la ponction amniotique, afin d'éliminer tout risque de contamination fœtale iatrogène. Toutefois, ce délai peut être soumis à des variations en fonction du stade de la grossesse où est dépistée l'infection à CMV. Avant 20 à 22 semaines de grossesse, le virus est moins facilement détecté dans le LA, en raison peut-être d'une diurèse fœtale moins fonctionnelle. Dans les cas où la culture ne peut être effectuée, ou si le prélèvement de LA a été congelé, l'ADN viral est détectable par amplification génique (PCR) avec une très bonne sensibilité et spécificité. La corrélation des résultats obtenus par les deux techniques de culture et PCR est excellente. Il n'y a en revanche pas de corrélation statistiquement significative entre la quantité de virus détectable dans le liquide amniotique et la sévérité de l'infection fœtale. L'analyse du sang fœtal est moins informative que celle du LA : la présence d'IgM spécifiques ou l'isolement viral dans le sang fœtal ne sont pas toujours corrélés à un isolement viral à partir du LA.

Il est important de souligner que si les techniques de diagnostic virologique prénatal permettent de diagnostiquer l'infection fœtale à CMV, il n'existe en revanche aucun paramètre biologique capable de prédire la gravité de son retentissement, en particulier la survenue d'une atteinte neuro-sensorielle, que seules les méthodes morphologiques (échographie, voire IRM) sont en mesure d'approcher.

4.3. Formes cliniques de l'infection néonatale congénitale

Dans la majorité des cas (85 à 90 %), l'infection congénitale à CMV est asymptomatique, et n'est révélée que par la détection d'une excrétion salivaire et/ou urinaire du virus dès les premiers jours de vie. Le pronostic de ces enfants asymptomatiques à la naissance est difficile à analyser car, le plus souvent, l'infection est ignorée. Cependant, plusieurs études ont mentionné que parmi ces nouveau-nés, certains (5 à 15 %) développeront des séquelles neurosensorielles. Dans l'étude prospective de Williamson, 59 enfants excrétant le CMV à la naissance ont eu un bilan audiométrique complété par des potentiels évoqués auditifs. Que la surdité existe dès la naissance, ou qu'elle débute de façon retardée, l'auteur a montré que ce déficit pouvait évoluer et s'aggraver secondairement. En revanche, dans l'étude de Ivarsson et al., 35 enfants ayant une virurie à CMV à la naissance ont été suivis jusqu'à l'âge de 7 ans, et évalués par des tests de développement et d'aptitudes intellectuelles. Les auteurs montrent que si l'examen est normal à l'âge de 1 an, le pronostic est excellent. Les difficultés d'interprétation tiennent peut-être à la définition des formes asymptomatiques. En effet, une infection cliniquement asymptomatique peut s'accompagner de signes biologiques et/ou radiologiques traduisant une atteinte multiviscérale : leucopénie et thrombopénie, cytolyse hépatique, anomalies du LCR, anomalies à l'échographie transfontanellaire. C'est la raison pour laquelle ces éléments font partie du bilan actuel de l'infection congénitale, à l'exception de la ponction lombaire, dont la pratique en l'absence d'anomalie neurologique clinique et/ou radiologique n'est pas systématique.

Dans 10 % des cas, la fœtopathie est symptomatique et se révèle à la naissance par un tableau associant de façon variable : retard de croissance par rapport à l'âge gestationnel, hépatosplénomégalie, ictère, thrombopénie, purpura, pétéchies, microcéphalie, choriorétinite, déficit auditif. Ces formes sévères sont associées à une mortalité à court ou moyen terme dans 30 % des cas, et à des séquelles neurologiques majeures chez 90 % des enfants ayant survécu. Il s'agit de retards mentaux et/ou de déficits visuels ou auditifs, de degré variable, nécessitant une prise en charge spécialisée.

4.4. Diagnostic de l'infection congénitale

Il repose sur l'isolement du virus chez le nouveau-né, à partir des urines ou de la salive prélevés à deux reprises lors des deux premières semaines de vie. En effet, l'excrétion virale est constante à hauts titres chez les nouveau-nés infectés, et persiste souvent plusieurs années. En revanche, un isolement positif après les premières semaines de vie peut révéler une infection per ou postnatale (passage de la filière génitale, maternage, allaitement). La présence d'IgM-CMV sériques a une forte valeur diagnostique chez le nouveau-né, mais est inconstante.

4.5. Paramètres prédictifs du pronostic de l'infection congénitale

La recherche de critères permettant d'évaluer le pronostic des enfants nés infectés a fait l'objet de nombreuses études. À la naissance, une fois le diagnostic d'infection congénitale à CMV porté, il est recommandé d'évaluer l'atteinte

Tableau 5. Bilan néonatal d'une infection congénitale à CMV.

Infection congénitale à CMV	Clinique	• Examen neurologique et ophtalmologique • Bilan audiométrique, potentiels évoqués auditifs
	Radiologique	• Échographie transfontanellaire, CT scanner, voire IRM
	Biologique	• Numération formule sanguine et plaquettaire • Transaminases, bilirubine • LCR si signes d'appel – cytologie – protéinorachie – PCR CMV

viscérale, et surtout celle du système nerveux central *(tableau 5)*. L'examen clinique général et neurologique est à compléter par un examen ophtalmologique, un bilan audiométrique, des potentiels évoqués auditifs et un examen radiologique cérébral (échographie transfontanellaire, CT scanner, voire IRM). Le bilan biologique comprend une numération formule sanguine et plaquettaire, un dosage des transaminases et de la bilirubine et un examen biochimique, cytologique et virologique du LCR (PCR à la recherche du génome viral) s'il existe des signes d'appel neurologiques.

Sur le plan clinique, l'existence d'une choriorétinite est un élément péjoratif, de même que les anomalies de l'examen neurologique et la microcéphalie. Sur le plan biologique, une protéinorachie élevée serait associée aux lésions du SNC, et la détection du génome viral par amplification génique (PCR) dans le LCR serait associée à un mauvais développement neurologique. Enfin, il existe un lien significatif entre la présence d'anomalies radiologiques à la naissance et l'incidence des séquelles à long terme, dont la surdité.

5. Traitement

Les molécules antivirales utilisées dans le traitement des infections à CMV de l'adulte immunodéprimé, ganciclovir et foscarnet, ont des effets secondaires contre-indiquant leur utilisation chez les femmes enceintes. On s'oriente actuellement de plus en plus vers le traitement par le ganciclovir des nouveau-nés symptomatiques en dépit de l'absence d'études cliniques ayant prouvé l'efficacité de cette mesure sur la prévention ou l'atténuation d'éventuelles séquelles neurosensorielles. La durée du traitement ainsi que ses modalités pratiques (posologie, rythme d'administration) restent à définir. Un essai clinique de phase II a porté sur des enfants de moins de 1 mois atteints de formes symptomatiques d'infection à CMV. Deux cohortes d'enfants ont été étudiées, constituées de 16 et

31 enfants traités respectivement par 8 et 12 mg/kg/j de ganciclovir intraveineux. Le traitement, prévu pour 6 semaines, n'a été interrompu que dans 19 % des cas en raison d'effets secondaires (neutropénie et thrombopénie, élévation des transaminases), montrant la relativement bonne tolérance à ce produit. Toutefois, la virurie est réapparue dans tous les cas à l'arrêt du traitement, et l'efficacité sur le développement neurologique de ces enfants n'a pas été démontrée.

Chez les enfants asymptomatiques à la naissance, on propose un suivi audiométrique et neurologique au cours des premières années de vie permettant la prise en charge précoce d'un éventuel déficit. La prochaine étape thérapeutique pourrait concerner les nouveau-nés asymptomatiques à la naissance, à condition qu'il soit possible de confirmer la validité des paramètres biologiques ou radiologiques associés à un risque majoré de séquelles auditives ou psychomotrices.

6. Prévention

En attendant la mise au point d'un vaccin, les mesures de prévention doivent viser à diminuer les primo-infections au cours de la grossesse. Le facteur de risque principal d'infection pour la femme enceinte est le contact avec des nourrissons ou des jeunes enfants eux-mêmes infectés. Le dépistage systématique de l'infection à CMV en cours de grossesse, beaucoup discuté à l'heure actuelle, pourrait être réservé aux femmes ayant un risque élevé : infirmières, personnel de crèche, institutrices, pédiatres, ou femmes enceintes ayant un enfant en bas âge en crèche. On pourrait recommander une sérologie de dépistage dans ces situations, et des mesures visant à réduire le risque de contamination chez les femmes séronégatives : lavage fréquent des mains (voire éventuellement port de gants pour le change des couches), non-partage des couverts, évitement des contacts avec la salive et les urines des sujets infectés. L'efficacité de ces mesures préventives est directement liée à la motivation des sujets exposés au risque infectieux.

Devant une séroconversion maternelle, réaliser un diagnostic prénatal à titre systématique présente des avantages et des inconvénients. En l'absence de paramètres virologiques de gravité, le diagnostic d'une infection fœtale qui sera asymptomatique dans 90 % des cas est apparu discutable. L'avantage essentiel de la mise en évidence de l'infection fœtale consiste à instaurer une surveillance échographique accrue, à la recherche de signes même discrets laissant suspecter une atteinte symptomatique sévère. Par ailleurs, la connaissance de l'infection dès la naissance permet de débuter rapidement une surveillance permettant le dépistage et la prise en charge d'éventuels déficits sensoriels.

7. Conclusion

Le cytomégalovirus est la cause la plus fréquente des infections congénitales (un nouveau-né sur 100 excrète le virus).

Une primo-infection maternelle par le cytomégalovirus (CMV) en début de grossesse fait courir au fœtus le risque de développer une embryofœtopathie sévère, associée à un risque vital néonatal, et à la possibilité de séquelles neurosensorielles.

Le diagnostic prénatal repose sur la mise en évidence du virus dans le liquide amniotique (culture ou PCR). Cette recherche s'impose devant des anomalies échographiques évocatrices.

Bien que 50 % des femmes enceintes ne soient pas immunisées, la détection du statut immunitaire et le suivi sérologique des mères séronégatives pendant la grossesse restent des sujets de controverse. Parmi les avantages d'un dépistage sérologique en début de grossesse, on retiendra la possibilité de mesures préventives chez les femmes séronégatives, une surveillance échographique accrue en cas de séroconversion maternelle, un suivi des nouveau-nés infectés permettant la détection et la prise en charge précoce d'éventuels troubles neuro-sensoriels. Parmi les arguments contre ce dépistage, on soulignera la fréquence des situations inutilement anxiogènes qu'il génère, l'absence de traitement chez la femme enceinte, l'absence de paramètres virologiques ou biologiques prédictifs de la transmission au fœtus et de la gravité de l'infection lorsqu'elle a lieu. L'évaluation de la sévérité de l'atteinte fœtale repose sur l'échographie. Une interruption médicale de grossesse n'est envisagée que devant des anomalies échographiques de mauvais pronostic (atteintes du SNC en particulier).

Pour en savoir plus

Adler SP, Finney JW, Manganello AM, Best AM. Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus by changing behaviors : a randomized controlled trial. Pediatr Infect Dis J 1996 ; 15 : 240-6.

Ahlfors K, Ivarsson SA, Johnsson T, Svanberg L. A prospective study on congenital and acquired cytomegalovirus infections in infants. Scand J Infect Dis 1979 ; 11 : 177-8.

Barbi M, Binda S, Caroppo S, Primache V, Dido P, Guidotti P, Corbetta C, Melotti D. CMV gB genotypes and outcome of vertical transmission : study on dried blood spots of congenitally infected babies. J Clin Virol 2001 ; 21 : 75-9.

Binder ND, Buckmaster JW, Benda G.I. Outcome for fetus with ascites and cytomegalovirus infection. Pediatrics 1988 ; 82 : 100-3.

Bodeus M, Hubinont C, Goubau P. Increased risk of cytomegalovirus transmission in utero during late gestation. Obstet Gynecol 1999 ; 93 : 658-60.

Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. Pediatrics 1999 ; 104 : 55-60.

Boppana SB, Fowler KB, Vaid Y, Hedlund G, Stagno S, Britt WJ, Pass RF. Neuroradiographic findings in the newborn period and long-term outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. Pediatrics 1997 ; 99 : 409-14.

Boppana SB, Pass RF, Britt WJ, Stagno S, Alford CA. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection : neonatal morbidity and mortality. Pediatr Infect Dis J 1992 ; 11 : 93-9.

Boppana SB, Rivera LB, Fowler KB, Mach M, Britt WJ. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity. N Engl J Med 2001 ; 344 : 1366-71.

Brown HL, Abernathy MP. Cytomegalovirus infection. Semin Perinatol 1998 ; 22 : 260-6.

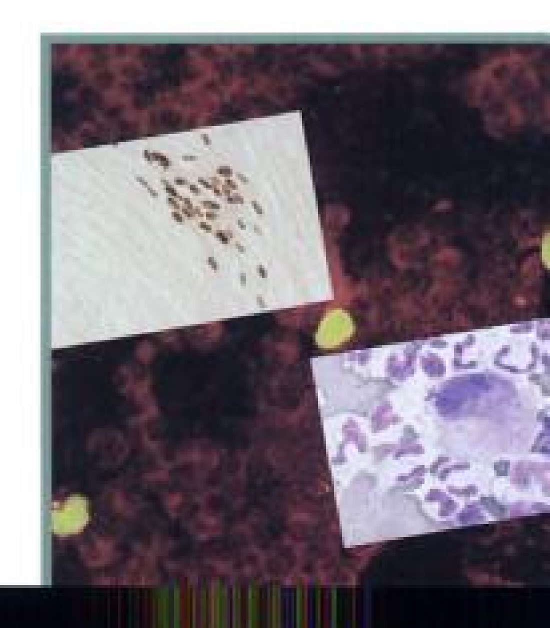
Conboy TJ, Pass RF, Stagno S, Alford CA, Myers GJ, Britt WJ, McCollister FP, Summers, MN, McFarland CE, Boll TJ. Early clinical manifestations and intellectual outcome in children with symptomatic congenital cytomegalovirus infection. J Pediatr 1987 ; 111 : 343-8.

Cytomégalovirus

Manifestations cliniques de l'infection à cytomégalovirus au cours du sida

Dominique Salmon-Céron

- Épidémiologie
- Manifestations cliniques
- Évolution de la maladie à CMV depuis l'ère des multithérapies antirétrovirales



La maladie à cytomégalovirus (CMV) au cours du sida est une conséquence de la réactivation endogène de l'infection à CMV induite par l'immunodépression sévère du sida. Ses conséquences sont graves en terme de morbidité et de mortalité. La réduction importante de l'incidence de la maladie à CMV depuis l'ère des antiprotéases ne doit pas faire oublier que cette maladie subsiste chez les patients en échec thérapeutique des traitements antirétroviraux hautement actifs. Son traitement est difficile car les médicaments disponibles ne sont que bactériostatiques et s'administrent essentiellement par voie intraveineuse. La mise à disposition récente d'une forme biodisponible par voie orale de ganciclovir constitue cependant un progrès majeur.

1. Épidémiologie

Au sein de la population de patients infectés par le VIH, la séroprévalence pour le CMV est très élevée, atteignant 85 %, et donc bien supérieure à celle de la population générale du même âge. Cette séroprévalence varie cependant selon les groupes à risque puisqu'elle est supérieure à 95 % chez les personnes contaminées par voie sexuelle tandis qu'elle est de l'ordre de 75 à 78 % chez les patients contaminés par voie hétérosexuelle ou par toxicomanie intraveineuse.
La maladie à CMV survient à un stade d'immunosuppression majeure. Le nombre de lymphocytes T CD4+ au moment du diagnostic de maladie à CMV est dans plus de 85 % des cas voisin de 25/mm³. Avant l'ère des antiprotéases, la maladie à CMV touchait entre 30 et 40 % des patients au cours de l'évolution du sida. Cette prévalence était même un peu sous-estimée, les études autopsiques retrouvant des inclusions virales dans divers tissus dans plus de 50 % des cas.
L'avènement des multitraitements antirétroviraux depuis 1996 a permis une réduction de plus de 80 % de l'incidence de la maladie à CMV. L'épidémiologie récente de la maladie à CMV concerne principalement les patients en situation d'échec thérapeutique, c'est-à-dire ayant un nombre de lymphocytes T CD4+ inférieur à 100/mm³ et une charge virale supérieure à 50 000 copies/mL. Ils représentent environ 5 % des patients traités en France. Quelques cas sont également observés chez des patients qui n'ont jamais été pris en charge et qui se présentent à l'hôpital d'emblée au stade sida.

2. Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de la maladie à CMV au cours du sida diffèrent de celles observées chez des patients souffrant d'autres causes d'immunodépression. La rétinite est la localisation la plus fréquente, suivie par les atteintes digestives et neurologiques, alors que les atteintes pulmonaires, fréquentes chez les receveurs de greffe de moelle, sont beaucoup plus rares au cours du sida *(figure 1)*.

2.1. Rétinite

La rétinite survient chez 10 à 15 % des patients ayant moins de 50 lymphocytes T CD4+/mm³ *(figure 2A et B)*. Il s'agit très souvent de la première manifestation

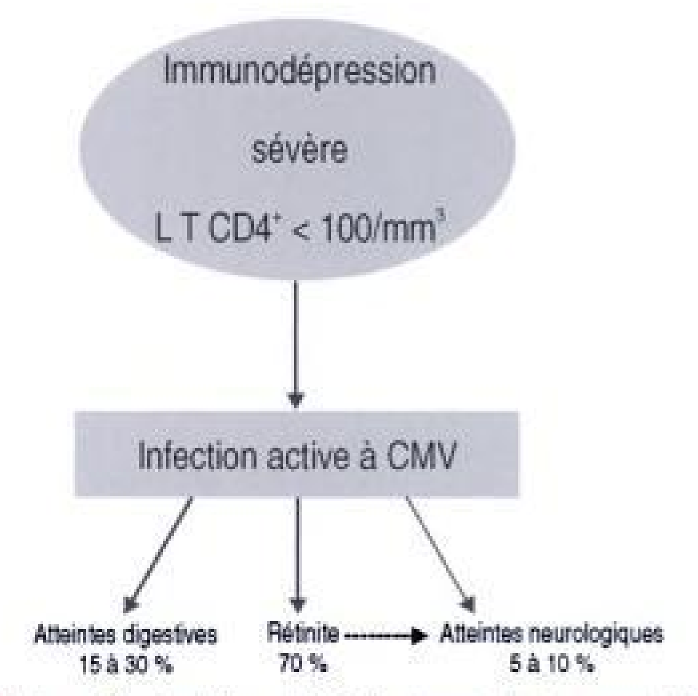


Figure 1. Principales manifestations cliniques de l'infection à cytomégalovirus au cours du sida. L T $CD4^+$: lymphocytes T $CD4^+$.

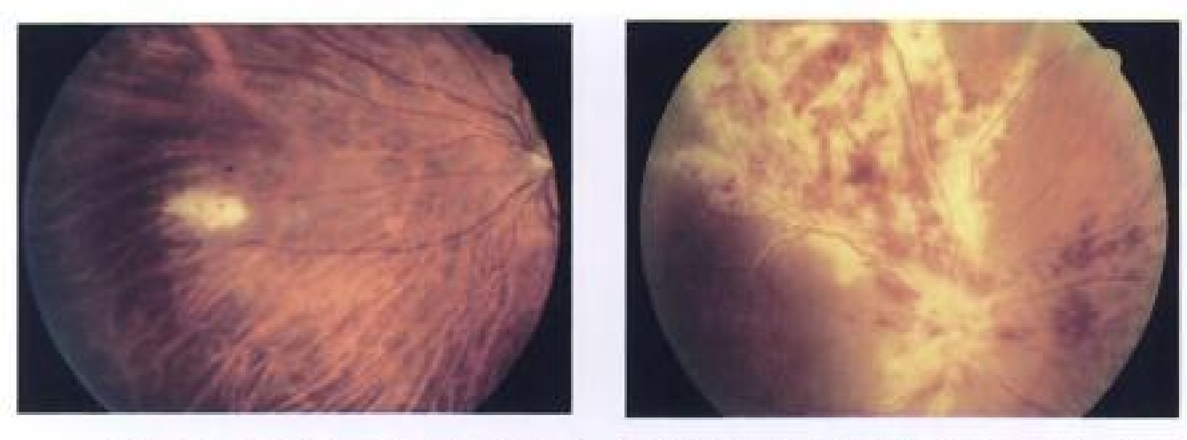


Figure 2. Aspects de rétinite à cytomégalovirus. **A.** Lésion localisée non hémorragique. **B.** Lésions hémorragiques périvasculaires.

de la maladie à CMV. Elle constitue 70 % des cas de maladie à CMV. Les signes cliniques sont inconstants et dépendent de la localisation des lésions. Ils sont surtout présents si la rétinite touche la macula ou le centre de la rétine. Il peut s'agir d'un flou visuel, d'un voile devant les yeux, de mouches volantes ou d'un scotome central d'apparition récente. Si l'atteinte est périphérique, elle peut rester longtemps asymptomatique. C'est pourquoi un suivi régulier du fond d'œil par le même ophtalmologiste est indispensable chez les patients ayant un nombre de lymphocytes $CD4^+$ inférieur à 100/mm³. L'examen du fond d'œil suffit à poser le diagnostic. Il montre un front de prolifération, des exsudats et/ou des hémorragies le long des vaisseaux.





Figure 3. Colite à cytomégalovirus. Aspects endoscopiques. **A.** Érosions diffuses multiples. **B.** Érosion bien limitée.

2.2.2. Colite

La colite à CMV se manifeste par un amaigrissement, une fièvre, une diarrhée ou des douleurs abdominales *(figure 3A et B)*. Elle peut se compliquer d'hémorragie digestive. Le diagnostic repose sur l'endoscopie et l'histologie. Il existe souvent un contexte de maladie à CMV, la rétinite ayant souvent précédé la survenue d'une colite. L'endoscopie montre dans 40 % des cas des lésions localisées prédominant au niveau du côlon gauche ou du côlon droit. Les lésions sont diffuses dans 30 % des cas mais l'endoscopie peut être normale.

2.2.3. Anorectite

Elle se manifeste par une douleur spontanée accrue par la défécation. L'endoscopie peut montrer des lésions ulcérées parfois nodulaires ou pseudo-tumorales. Le principal diagnostic différentiel est l'herpès. Le diagnostic doit être évoqué en l'absence de réponse au traitement par aciclovir.

2.2.4. Manifestations hépatobiliaires

Le CMV peut toucher les voies biliopancréatiques. Il peut être responsable d'une cholangite. Les signes cliniques évocateurs sont une douleur de l'hypocondre droit accompagnée de nausées, fièvre et amaigrissement. Le diagnostic est évoqué par l'échographie ou le scanner qui montre des sténoses et dilatations étagées des voies biliaires donnant un aspect en arbre mort. Il est confirmé par la biopsie de la papille effectuée par endoscopie qui permet à l'histologie d'objectiver des inclusions virales. Il s'agit d'une localisation souvent tardive et des antécédents de rétinite à CMV sont évocateurs. La microsporidiose, également responsable de cholangite, constitue le principal diagnostic différentiel mais cette dernière s'accompagne souvent de diarrhée et ne survient pas dans un contexte fébrile. L'hépatite à CMV est plus rare et là encore le diagnostic repose sur l'histologie.

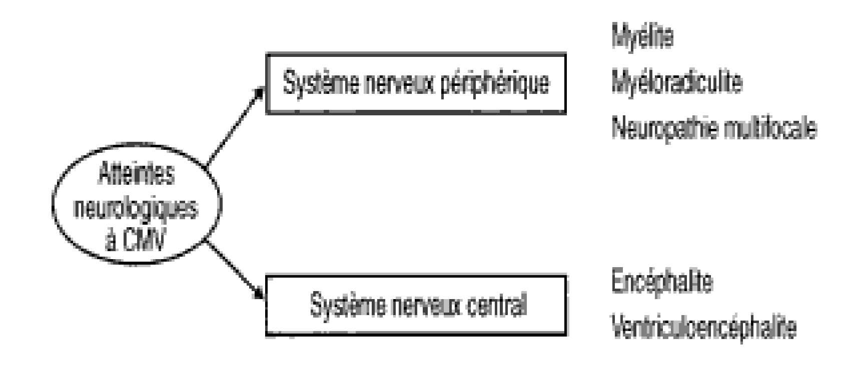


Figure 4. Manifestations neurologiques de l'infection à cytomégalovirus au cours du sida.

2.3. Atteintes neurologiques

Les atteintes neurologiques liées au CMV sont des manifestations souvent tardives de l'infection à CMV. Les atteintes périphériques peuvent toutefois être inaugurales. Elles représentent 5 à 10 % de l'ensemble des manifestations dues au CMV. On distingue trois types d'atteintes : les encéphalites, les méningo-myéloradiculites, les neuropathies multifocales *(figure 4)*.

2.3.1. Encéphaloventriculite

Il s'agit d'un tableau d'installation rapide en 2–3 semaines dans un contexte de maladie à CMV. Il associe des troubles de conscience pouvant évoluer vers le coma ainsi que des déficits sensitivomoteurs. Les arguments en faveur du CMV sont la fièvre présente dans 80 % des cas, une paralysie des nerfs crâniens (30 % des cas). Le nombre de lymphocytes T $CD4^+$ est en général inférieur à 20–50/mm^3.

La ponction lombaire montre une pléiocytose à polynucléaires. Le principal argument en faveur du diagnostic est la détection d'ADN viral par PCR dans le LCR, technique très sensible et spécifique (sensibilité 91 %, spécificité 86 %). Les examens radiologiques peuvent aider au diagnostic, en particulier l'imagerie par résonance magnétique (IRM) lorsqu'elle montre des hypersignaux périventriculaires très évocateurs signant la ventriculite nécrosante. Le traitement qui repose sur une bithérapie par foscarnet et ganciclovir est inconstamment efficace. Le pronostic est très défavorable à court terme et la survie médiane n'est que de quelques mois.

2.3.2. Myélite et myéloradiculite à CMV

Le diagnostic est évoqué devant l'installation rapide en quelques jours à quelques semaines d'une paralysie ou d'une paraplégie associant des troubles moteurs et sensitifs et des troubles sphinctériens. La ponction lombaire montre une

hypercytose à polynucléaires et surtout la présence d'une PCR CMV positive. L'IRM objective des hypersignaux médullaires, mais des formes pseudo-tumorales sont possibles.

2.3.3. Neuropathies multifocales

Elles sont évoquées devant l'installation rapide d'une multinévrite sensitive ou sensitivomotrice douloureuse. Elle peut toucher les membres supérieurs et les membres inférieurs. Le diagnostic repose sur la biopsie neuromusculaire qui objective des inclusions virales à CMV. La ponction lombaire est rarement contributive car la PCR CMV n'est pas toujours positive. Les diagnostics différentiels sont les neuropathies médicamenteuses souvent douloureuses (nucléosides) et la neuropathie distale sensitive liée au VIH. Ces dernières sont souvent bilatérales et symétriques à la différence des neuropathies multifocales à CMV.

2.4. Pneumopathie

La pneumopathie à CMV est rare et ne représente pas plus de 5 % de l'ensemble des atteintes dues au CMV au cours du sida. Il s'agit d'une pneumopathie interstitielle fébrile et hypoxémiante, qui est souvent associée à une autre atteinte, en particulier une pneumocystose ou un sarcome de Kaposi pulmonaire. Il faut y penser de façon systématique lorsque les patients reçoivent une corticothérapie pour une pneumocystose hypoxémiante traitée par cotrimoxazole.

2.5. Autres atteintes liées au CMV

Le CMV peut se répliquer dans tous les organes comme le montrent les études autopsiques qui ont retrouvé des inclusions virales chez 50 à 70 % des patients. Il peut être responsable de sinusite, d'atteinte cutanée, pancréatique, splénique, de myocardite et d'appendicite.
Si le diagnostic de ces atteintes est particulièrement difficile, l'atteinte surrénalienne doit être systématiquement recherchée devant un patient ayant déjà fait plusieurs localisations à CMV puisqu'un traitement spécifique est possible. Des cas de microangiopathie thrombotique ont été rapportés chez le patient infecté par le VIH.

3. Évolution de la maladie à CMV depuis l'ère des multithérapies antirétrovirales

Avant l'avènement des multithérapies antirétrovirales, le pronostic de la maladie à CMV était très défavorable. Il marquait un tournant dans l'évolution du sida puisque les patients devaient être traités à vie et par voie intraveineuse, ce qui imposait la pose d'une chambre implantable. Ce traitement entraînait la cicatrisation des lésions de rétinite dans plus de 70 % des cas mais des rechutes étaient inéluctables dans un délai de 2 à 4 mois. Le pronostic était encore plus sombre pour les manifestations neurologiques où l'on ne pouvait espérer qu'une amélioration incomplète chez 50 % des patients avec un délai de survie de 3 mois, malgré une bithérapie associant ganciclovir et foscarnet.

Depuis l'avènement des multithérapies antirétrovirales, les rechutes sont beaucoup plus rares. La restauration immunitaire et la remontée du nombre des lymphocytes T $CD4^+$ permettent même l'arrêt des traitements d'entretien anti-CMV. Cet arrêt est possible dès que le nombre de lymphocytes T $CD4^+$ devient supérieur à 75 à 100/mm^3 et que la charge virale plasmatique VIH est contrôlée depuis quelques mois. Chez de tels patients, un suivi ophtalmologique reste cependant nécessaire pour deux raisons :

– des inflammations de la chambre intérieure de l'œil ou de vraies uvéites ont été observées lors de la restauration immunitaire, parfois responsables de troubles visuels ;

– des rechutes sont toujours possibles chez des patients en échec thérapeutique, lorsque le nombre de lymphocytes T $CD4^+$ chute sous la barre des 100/mm^3.

Pour en savoir plus

Anduze-Faris B, Fillet AM, Gozlan J, Lancar R, Boukli N, Gasnault J, et al. Induction and maintenance therapy for cytomegalovirus central nervous system infection in HIV-infected patients. AIDS 2000 ; 14 : 517-24.

Casado JL, Arrizabalaga J, Montes M, Marti-Belda P, Tural C, Pinilla J, et al. Incidence and risk factors for developing cytomegalovirus retinitis in HIV-infected patients receiving protease inhibitor therapy. AIDS 1999 ; 13 : 1497-501.

Cassoux N, Lumbroso L, Bodaghi B, Zazoun L, Katlama C, Le Hoang P. Cystoid macular oedema and cytomegalovirus retinitis in patients with HIV disease treated with highly active antiretroviral therapy. Br J Ophtalmol 1999 ; 83 : 47-9.

Dieterich DT, Rahmin M. Cytomegalovirus colitis in AIDS ; presentation in 44 patients and a review of the literature. J Acquir Immun Def Synd 1991 ; 4 : S29-S35.

Gérard L, Leport C, Flandre P, et al. Cytomegalovirus viremia and the CD4 lymphocyte count as predictors of CMV disease in patients with human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis 1997 ; 24 : 836-40.

Kirk O, Lundgren JD, Pedersen B, et al. Can chemoprophylaxis against opportunistic infections be discontinued after an increase in CD4 cells induced by highly active antiretroviral therapy ? AIDS 1999 ; 13 : 1647-51.

Komanduri KV, Viswanathan MN, Wieder ED, et al. Restoration of cytomegalovirus-specific CD4+ T-lymphocyte responses after ganciclovir and highly active antiretroviral therapy in individuals infected with HIV1. Nature Med 1998 ; 4 : 953-6.

Labetoulle M, Goujard C, Frau E, Rogier H, Niessen F, Furlan V, et al. Cytomegalovirus retinitis in advanced HIV-infected patients treated with protease inhibitors : incidence and outcome over 2 years. J AIDS 1999 ; 22 : 228-34.

McCutchan JA. Cytomegalovirus infections of the nervous system in patients with AIDS. Clin Infect Dis 1995 ; 20 : 747-54.

O'Sullivan CE, Drew WL, McMullen DJ, et al. Decrease of cytomegalovirus replication in human immunodeficiency virus infected-patients after treatment with highly active antiretroviral therapy. J Infect Dis 1999 ; 180 : 847-9.

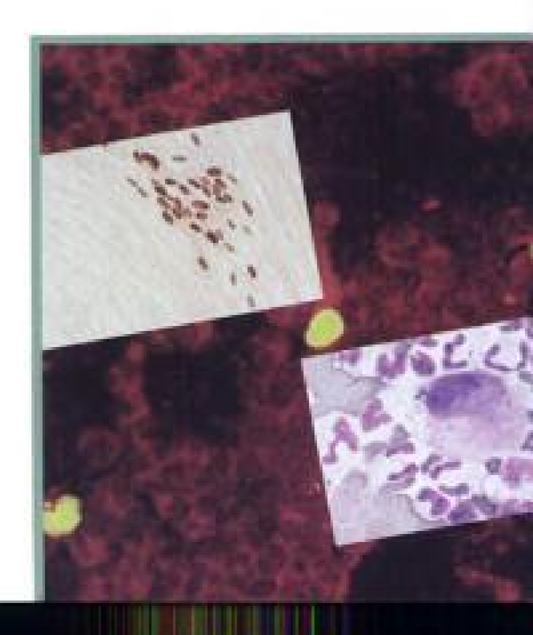
Robain M, Carre N, Salmon-Ceron D, Dussaix E, Meyer L, et le groupe Seroco. Prévalence et incidence du cytomégalovirus (CMV) chez les sujets infectés par le VIH1. Presse Méd 1998 ; 27 : 949-53.

Salmon D, Mazeron MC, Chaput S, Boukli N, Sénéchal B, Houhou N, et al. Plasma CMV DNA, pp65 antigenemia and low CD4 count remain risk factors for CMV disease in patients receiving HAART. AIDS 2000 ; 14 : 1041-9.

Cytomégalovirus

Conséquences cliniques de l'infection à CMV chez le receveur de greffe de moelle

Agnès Devergie



Au cours de la phase précoce de la greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques, les conditions optimales d'infection à CMV sont réunies : la stimulation allogénique des cellules mononucléées favorise la réactivation virale que le système immunitaire du receveur, profondément inhibé, ne peut contrôler, conduisant à la réplication et à la propagation du virus. Les symptômes cliniques de l'infection sont liés eux-mêmes au contexte particulier d'immunosuppression et de réaction allogénique qui caractérise ces patients.

1. Définition

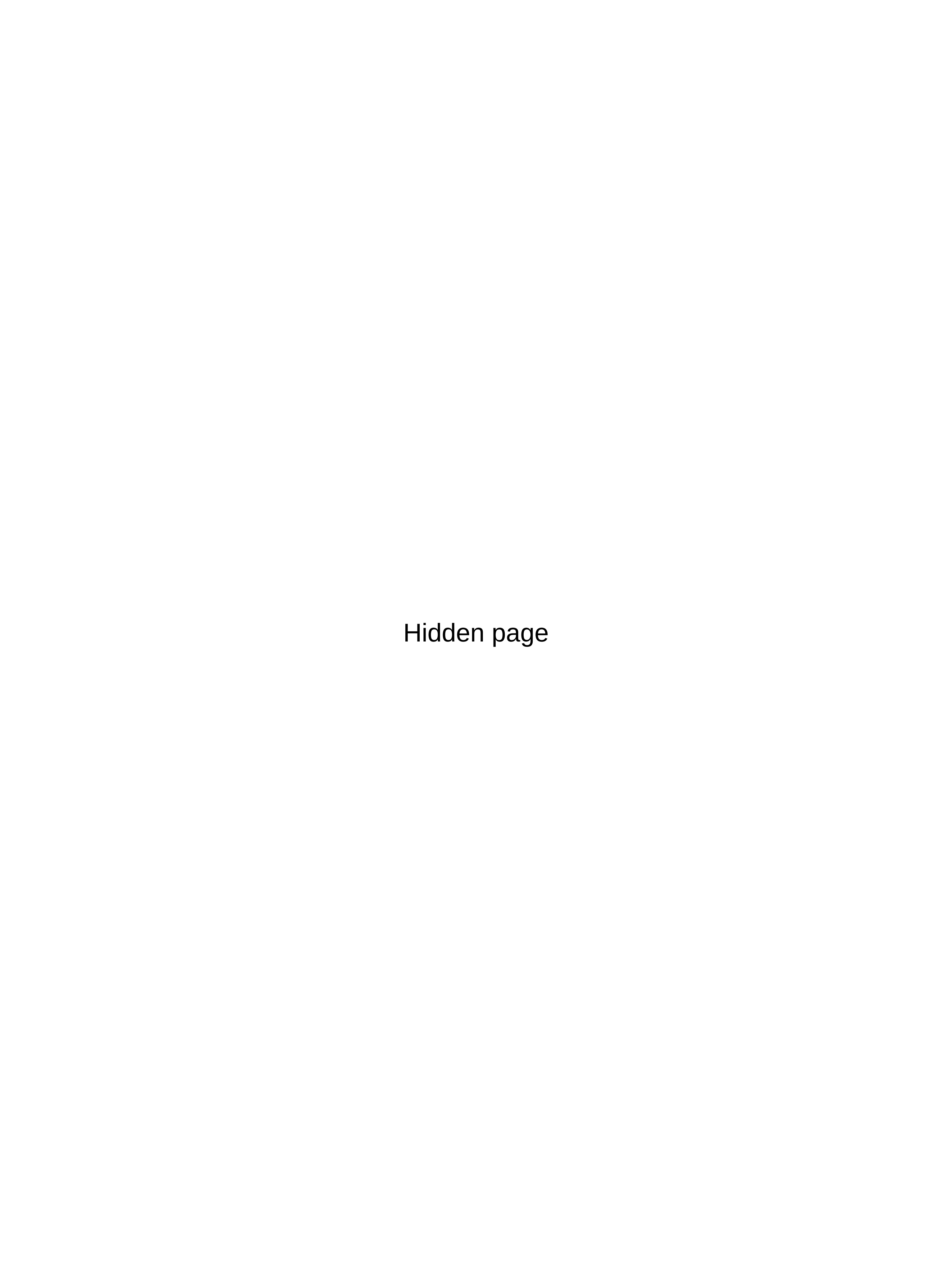
L'infection et la maladie à CMV chez le receveur de greffe de moelle osseuse ou de cellules souches hématopoïétiques sanguines ont été définies au cours d'une réunion internationale en 1998. On appelle infection à CMV la présence de stigmates biologiques de réplication virale dans le sang ou dans les tissus et on définit la maladie à CMV par l'association d'une réplication virale et de symptômes cliniques.

2. Circonstances de survenue de l'infection

Les manifestations cliniques de l'infection à CMV chez le greffé de moelle se sont modifiées au cours des années en fonction des progrès réalisés dans les méthodes de diagnostic, de plus en plus précoces, et des stratégies thérapeutiques, avec en particulier la généralisation du traitement anticipé « preemptive therapy », voire l'instauration de traitements préventifs systématiques chez les sujets les plus à risque. La fréquence et la gravité de la maladie à CMV ont globalement diminué, surtout dans les trois premiers mois après la greffe, mais on a constaté l'apparition d'infections tardives responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives. Les circonstances de survenue de l'infection à CMV et sa gravité dépendent d'un certain nombre de facteurs liés au receveur, au donneur, à la technique de la greffe et aux complications post-greffe. Si l'incidence chez le receveur séropositif est globalement inchangée, aux alentours de 60 % des cas, elle a considérablement diminué chez le receveur séronégatif, y compris si le donneur de moelle est séropositif, grâce à la généralisation de l'utilisation de produits sanguins filtrés déleucocytés ; ainsi, la fréquence de l'infection est passée chez ces patients séronégatifs d'environ 30 % des cas à moins de 10 %. La gravité de la maladie à CMV est liée à l'intensité du déficit immunitaire post-greffe, qui varie selon les cas : le déficit immunitaire est en effet accru lorsque le greffon est déplété en lymphocytes T, lors de l'administration de sérum antilymphocytaire, lorsqu'il s'agit d'un donneur non géno-identique et en cas de survenue d'une réaction du greffon contre l'hôte (GVH).

3. Manifestations cliniques de l'infection à CMV

Les manifestations cliniques de l'infection à CMV chez le greffé de moelle sont particulières, liées à l'intrication complexe de différents mécanismes qui associent une cytotoxicité directe due au CMV et des lésions non spécifiques induites par la réaction immune allogénique, elle-même majorée par l'infection virale.


Hidden page

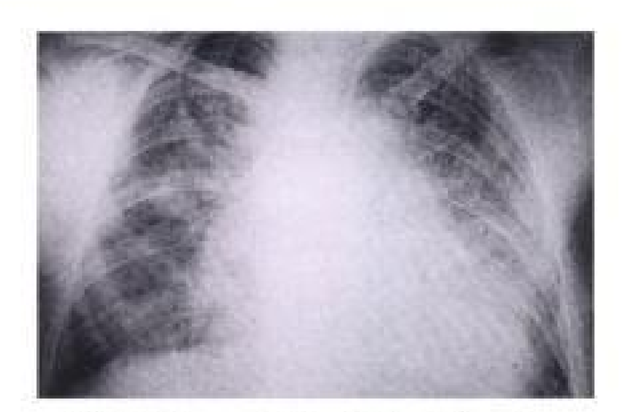


Figure 1. Pneumopathie interstitielle à cytomégalovirus.

gazométriques (hypoxie) à l'isolement du CMV dans un prélèvement pulmonaire : lavage broncho-alvéolaire, broncho-aspiration ou classiquement biopsie pulmonaire, ce dernier geste n'étant plus réalisé en pratique. Les anomalies radiologiques sont souvent discrètes au début, marquées par une simple accentuation de la trame pulmonaire, contrastant avec une hypoxie d'emblée sévère.

Avant l'apparition de traitements antiviraux efficaces, une pneumonie interstitielle à CMV survenait chez 10 à 30 % des receveurs d'allogreffes. Elle représentait 40 à 70 % des pneumonies interstitielles et sa mortalité était de 85 à 95 % des cas. Elle était donc responsable à elle seule de près d'un décès sur cinq. Le décès survenait dans un tableau d'hypoxémie réfractaire irréversible avec aspect de poumons « blancs » à la radiographie. Ce tableau gravissime est aujourd'hui très rare, en raison de trois progrès majeurs dans la prise en charge de ces malades. Tout d'abord, la disponibilité de techniques rapides de diagnostic précoce a conduit à détecter l'infection à CMV avant l'apparition de la maladie CMV. Ensuite, la mise au point des traitements anticipés a permis de prévenir l'apparition des manifestations cliniques, faisant diminuer l'incidence de la pneumonie à CMV de façon spectaculaire. Enfin, l'association de gammaglobulines à fortes doses et de traitements antiviraux efficaces a diminué d'au moins 50 % la mortalité des pneumonies interstitielles à CMV.

4. Autres conséquences de l'infection à CMV

La gravité globale de l'infection à CMV a donc été réduite, mais des problèmes demeurent, et la notion de séropositivité avant la greffe reste un facteur de pronostic potentiellement péjoratif. En effet, la réactivation du CMV dans les mois qui suivent la greffe a des conséquences indirectes néfastes. Elle peut être un facteur déclenchant ou adjuvant de la réaction immunitaire allogénique et favoriser l'apparition d'une GVH sévère. La leuconeutropénie liée à l'infection virale et/ou à la toxicité hématologique du traitement antiviral (en particulier par le ganciclovir) favorise l'apparition secondaire d'autres infections notamment aspergillaires, qui sont devenues une des causes majeures d'échec de la greffe.

La toxicité rénale de médicaments antiviraux, comme le foscarnet, peut potentialiser la toxicité rénale d'autres agents anti-infectieux ou d'immunosuppresseurs tels la ciclosporine.
Enfin, des résistances aux antiviraux apparaissent, nécessitant l'emploi de nouvelles molécules ou l'association de molécules.
Surtout, l'infection à CMV est souvent récidivante, le déficit immunitaire lié à la greffe persistant plusieurs mois et les antiviraux ne permettant pas l'éradication du virus. L'infection virale elle-même favorise ce déficit immunitaire. La multiplication des épisodes de réplication virale et des cures d'antiviraux majore le risque de cytopénie et d'infection associée tardive. Cette persistance virale est responsable d'une morbidité prolongée et d'une mortalité secondaire significative. C'est dire l'intérêt des recherches sur des méthodes de prévention efficaces chez ces sujets allogreffés qui restent, malgré des progrès spectaculaires au cours des 15 dernières années, à très haut risque pour cette infection.

Pour en savoir plus

Atkinson K, Nivision-Smith I, Dodds A, Concannon A, Milliken S, Downs KA. Comparison of the pattern of interstitial pneumonitis following allogeneic bone marrow transplantation before and after the introduction of prophylactic ganciclovir therapy in 1989. Bone Marrow Transplant 1998 ; 21 : 691-5.

Boeckh MJ, Ljunginan P. Cytomegalovirus infection after BMT. In : Bowden RA, Ljungrnan P, Paya CV, Eds. Transplant infections. Philadelphia : Lippincott-Raven Publishers ; 1998. p. 215-27.

Emmanuel D, Cunningham I, Jules-Elysee K, Brochstein JA, Kernan NA, Laver J, et al. Cytomegalovirus pneumonia after bone marrow transplantation successfully treated with the combination of ganciclovir and high-dose intravenous immune globulin. Ann Intern Med 1988 ; 109 : 777-82.

Gluckman E, Mazeron MC, Nebout T, Jolivet I, Keable H, Meletis J, et al. Early treatment of cytomegalovirus viremia with ganciclovir after bone marrow transplantation: a preliminary study. Clin Transplant 1987 ; 1 : 203-8.

Goodrich JM, Mori M, Gleaves CA, Du Mond C, Cays M, Ebeling DF, et al. Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. N Engl J Med 1991 ; 325 : 1601-7.

Grundy JE, Shanley JD, Griffith PD. Is cytomegalovirus interstitial pneumonitis in transplant recipients an immunological condition ? Lancet 1987 ; 2 : 996-9.

Cytomégalovirus

Conséquences cliniques de l'infection à CMV chez le receveur de greffe d'organe

Christophe Legendre



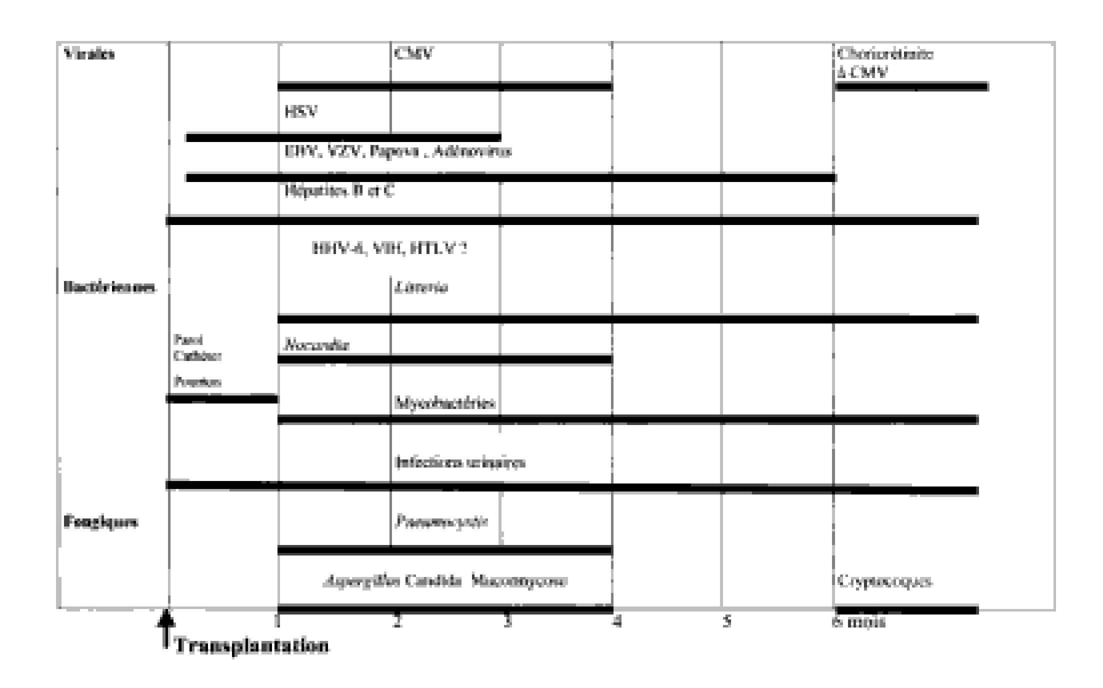


Figure 1. Chronologie des infections après transplantation d'organe.

entre le 1er et le 4e mois suivant la transplantation comme ceci a été décrit par Rubin dans la chronologie des infections post-transplantation *(figure 1)*. Elle survient plus précocement en cas de primo-infection et en cas de transplantation hépatique et intestinale. L'utilisation de plus en plus fréquente d'une prophylaxie de l'infection à CMV après transplantation a fait apparaître des formes plus tardives volontiers pauci-symptomatiques après le 4e mois post-transplantation. Sans traitement, cette fièvre est très évocatrice par sa régularité : un pic quotidien à 39–40 °C survenant tous les jours à peu près à la même heure, suivi d'une défervescence. À l'heure actuelle, le traitement curatif est instauré très précocement et cette fièvre typique n'est plus observée. Il convient, bien entendu, d'éliminer les autres causes de fièvre infectieuses ou non avant de rapporter la fièvre au CMV. Dans les formes sans localisation viscérale, la fièvre s'accompagne d'une asthénie, parfois d'arthralgies, d'une leucopénie relative ou absolue, d'une thrombopénie et d'une cytolyse hépatique.

Les localisations viscérales, témoins du caractère invasif de l'infection à CMV, font toute la gravité de la maladie. Très schématiquement, l'organe transplanté est volontiers le siège d'une localisation viscérale de la maladie à CMV : c'est en tout cas vrai pour le foie en transplantation hépatique, pour l'intestin en transplantation intestinale et pour le poumon en transplantation pulmonaire. Ceci est moins évident pour le rein en transplantation rénale et pour le cœur en transplantation cardiaque. Ceci peut être dû à une charge virale spécifique et différente d'un organe à l'autre ou encore à la surveillance accrue de l'organe transplanté lui-même.

L'hépatite à CMV se traduit par une cytolyse hépatique suivie rapidement d'une élévation des phosphatases alcalines et des gamma-GT sans modification de la

bilirubinémie. Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence du virus ou de marqueurs viraux sur un fragment biopsique.

La pneumopathie à CMV se traduit par une pneumopathie bilatérale, diffuse, hypoxémiante, le plus souvent mais pas exclusivement interstitielle. Cliniquement, il existe une toux et une dyspnée. Le diagnostic positif est souvent compliqué par l'existence d'une autre infection concomitante, en particulier une infection à *Pneumocystis carinii*.

Les localisations digestives de la maladie à CMV peuvent intéresser tout le tractus digestif depuis l'œsophage jusqu'au côlon. La symptomatologie est donc protéiforme et parfois peu évocatrice. Il convient alors d'être particulièrement vigilant devant une hémorragie digestive, un tableau de perforation intestinale. Les aspects endoscopiques sont eux aussi peu spécifiques et la biopsie est nécessaire pour poser le diagnostic. Il faut signaler la particulière gravité des localisations pancréatiques.

La rétinite à CMV est rare et n'est quasiment jamais observée dans les six premiers mois de la transplantation. Sa symptomatologie n'est pas différente de ce qu'elle est chez les patients atteints de sida. Chez les patients transplantés, elle témoigne toujours d'une profonde immunosuppression et son pronostic est péjoratif.

Par ailleurs, en 1981, Richardson et al. décrivaient une lésion glomérulaire originale, à type de turgescence des cellules endothéliales glomérulaires avec présence de cellules mononucléées dans la lumière des capillaires glomérulaires aboutissant à des aspects d'oblitération, chez des patients transplantés rénaux présentant une virémie à cytomégalovirus. Cette lésion glomérulaire n'a été confirmée que par peu d'auteurs et ses relations exactes avec le cytomégalovirus n'ont jamais été précisément établies car, d'une part, de telles lésions rénales n'ont pas été mises en évidence dans d'autres types de transplantation et, d'autre part, ces lésions rénales ont été décrites chez des patients sans signes d'infection à cytomégalovirus. Il s'agit donc plus probablement d'une lésion glomérulaire de rejet d'allogreffe.

Les autres localisations décrites sont : la peau, le système nerveux central, l'épididyme, le myocarde, la vessie, l'uretère, l'endomètre, etc.

3. Autres conséquences de l'infection à CMV

3.1. Immunodépression

Le cytomégalovirus induit un état d'immunosuppression non spécifique qui fait le lit des surinfections à germes opportunistes au premier rang desquelles se situe le *Pneumocystis carinii*. La diminution des fonctions des macrophages alvéolaires due au cytomégalovirus explique probablement l'association bien documentée dans la littérature entre infection symptomatique à cytomégalovirus et pneumonie à *Pneumocystis carinii*. En outre, le cytomégalovirus favorise la colonisation des voies aériennes supérieures par des bacilles Gram négatifs, ce qui conduit à une augmentation de l'incidence des pneumonies à bacille Gram négatif. Une association entre infection à CMV et d'autres infections virales a également été évoquée : syndrome lymphoprolifératif lié à l'EBV, infections à HHV-6 et 7.

3.2. Fonction de l'organe transplanté

Une question importante et encore un peu confuse est celle des conséquences délétères ou non de l'infection à CMV sur la fonction de l'organe transplanté. Les effets indirects du CMV sur l'organe transplanté sont à la fois aigus et chroniques. En transplantation cardiaque, en 1989, Grattan et al. rapportèrent l'expérience du groupe de Stanford sur l'influence de l'infection à cytomégalovirus à propos de 301 patients. Certes, l'incidence du rejet aigu était significativement augmentée chez les patients qui avaient développé une infection à cytomégalovirus mais, fait plus intéressant, les lésions d'athérosclérose du greffon, appréciées tant angiographiquement qu'histologiquement, étaient significativement plus sévères chez les patients infectés que chez les patients indemnes d'infection à cytomégalovirus. Enfin, la mortalité due à ces lésions d'athérosclérose était elle aussi accrue. Or, on connaît les similitudes entre les lésions histologiques d'athérosclérose et celles de rejet chronique dans sa forme essentiellement vasculaire. Mais qu'il s'agisse de lésions d'athérosclérose ou plus probablement de lésions de rejet chronique, il n'en demeure pas moins que l'impact de l'infection à cytomégalovirus était délétère en transplantation cardiaque.

En transplantation rénale, il existe plusieurs arguments plaidant également en faveur d'un effet délétère. Simmons et al., les premiers en 1970, avaient évoqué le possible déclenchement d'un rejet aigu par une infection à cytomégalovirus. Lopez et al., sur une plus grande série, avaient mis en évidence une relation temporelle entre infection à cytomégalovirus et rejet aigu d'allogreffe, l'infection pouvant déclencher une réaction de rejet ou, au contraire, le rejet pouvant déclencher une infection. Même si des homologies de séquence ont été mises en évidence chez l'homme, entre la chaîne bêta des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II et un antigène précoce du cytomégalovirus humain, le dilemme des interrelations cytomégalovirus/rejet n'est toujours pas résolu à l'heure actuelle. Il existe une relation statistique entre infection à CMV et rejet aigu comme cela a été bien démontré par Pouteil-Noble et al. sans qu'il soit possible, là encore, de déterminer formellement si le rejet aigu est la cause ou la conséquence de l'infection à CMV. Les données du registre nord-américain de transplantation (Unos) retrouvent un effet délétère certes modeste (une diminution de la survie du greffon d'environ 5 % à 3 ans) mais significatif. En outre, en traitant par 14 jours de ganciclovir IV, toute infection asymptomatique à CMV (définie par la détection de l'antigénémie pp65), Akposso et al. ont rapporté que la survie à long terme des patients et des greffons était comparable chez les patients n'ayant jamais développé d'infection et chez ceux ayant été traités préventivement, comme si l'éventuel effet rénal délétère du CMV avait été gommé par le traitement antiviral. Enfin, l'argument le plus important, même s'il demande à être confirmé, est celui apporté dans l'étude de Lowance et al. en 1999 : la prévention de l'infection à CMV chez les patients les plus à risque (D+R–) diminue significativement l'incidence du rejet aigu *(figure 2)*.

En transplantation hépatique et pulmonaire, l'infection à CMV est un facteur reconnu de moins bon pronostic de la transplantation probablement par le biais, d'une part, de l'état de surimmunosuppression induit et, d'autre part, par le développement de lésions de rejet chronique, ductopénie biliaire en cas de transplantation hépatique et bronchiolite oblitérante en cas de transplantation pulmonaire.

Pour en savoir plus

Akposso K, Rondeau E, Haymann JP, Peraldi MN, Marlin C, Sraer JD. Long-term prognosis of renal transplantation after preemptive treatment of cytomegalovirus infection. Transplantation 1997 ; 63 : 974-6.

Balfour HH. Cytomegalovirus disease ; can it be prevented ? Ann Intern Med 1983 ; 98 : 544-6.

Balfour HH. Options for prevention of cytomegalovirus disease. Ann Intern Med 1991 ; 114 : 598-9.

Chatterjee SN, Fiala M, Weiner J, Stewart JA, Stacey B, Warner N. Primary cytomegalovirus and opportunistic infections. JAMA 1978 ; 240 : 2446-9.

Falagas ME, Arbo M, Ruthazer R, Griffith JL, Werner BG, Rohrer R, et al. Cytomegalovirus disease is associated with increased cost and hospital length of stay among orthotopic liver transplant recipients. Transplantation 1997 ; 63 : 1595-601.

Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. N Engl J Med 1998 ; 338 : 1741-51.

Gjertson DW. Look-up survival tables for renal transplantation. In : Cecka JM, Terasaki PI, Eds. Clinical Transplants 1997. Los Angeles : UCLA ; 1998. p. 337-83.

Grattan MT, Moreno-Cabral CE, Starnes VA, Oyer PE, Stinson EB, Shumway NE. Cytomegalovirus infection is associated with cardiac allograft rejection and atherosclerosis. JAMA 1989 ; 261 : 3561-6.

Hill RB Jr, Rowlands DT Jr, Rifkind D. Infectious pulmonary disease in patients receiving immunosuppressive therapy for organ transplantation. N Engl J Med 1964 ; 271 : 1021-7.

Kim WR, Badley AD, Wiesner RH, Porayko MK, Seaberg EC, Keating MR, et al. The economic impact of cytomegalovirus infection after liver transplantation. Transplantation 2000 ; 69 : 357-61.

Legendre C, Norman D, Keating MR, Maclaine GDH, Grant DM. Valaciclovir prophylaxis of cytomegalovirus infection and disease in renal transplantation : an economic evaluation. Transplantation 2000 ; 27 : 1463-8.

Lopez C, Simmons RL, Mauer SM, Najarian JS, Good RA, Gentry S. Association of renal allograft rejection with virus infections. Am J Med 1974 ; 56 : 280-9.

Lowance D, Neumayer HH, Legendre C, Squifflet JP, Kovarik J, Brennan PJ, et al. Valaciclovir for the prevention of cytomegalovirus disease after renal transplantation. N Engl J Med 1999 ; 340 : 1462-70.

Mackowiak PA, Goggans M, Torres W, Dal Nogare A, Lucy JP, Halderman H. Relationship between cytomegalovirus and colonization of the oropharynx by gram-negative bacilli following renal transplantation. Epidemiol Infect 1992 ; 107 : 411-20.

McCarthy JM, Karim MA, Krueger H, Keown PA. The cost impact of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. Transplantation 1993 ; 55 : 1277-82.

Paya CV, Wiesner RH, Hermans PE, Larson-Keller JJ, Ilstrup DM, Krom RA, et al. Risk factors for cytomegalovirus and severe bacterial infections following liver transplantation : a prospective multivariate time-dependant analysis. J Hepatol 1993 ; 18 : 185-95.

Peterson PK, Balfour HH, Marker SC, Fryd DS, Howard RJ, Simmons RL. Cytomegalovirus disease in renal allograft recipients : a prospective study of the clinical features, risk factors and impact on renal transplantation. Medicine 1980 ; 59 : 283-99.

Pouteil-Noble C, Ecochard R, Bétuel H, Dubernard JM, Aymard M, Touraine JL. HLA B and DR mismatching, a risk factor for cytomegalovirus infection after renal transplantation. Clin Transplant 1993 ; 7 : 467-74.

Pouteil-Noble C, Ecochard R, Landrivon G, Donia-Maged A, Tardy JC, Bosshard S, et al. Cytomegalovirus infection- an etiological factor for rejection ? A prospective study in 242 renal transplant patients. Transplantation 1993 ; 55 : 851-7.

Richardson WP, Colvin RB, Cheeseman SH, Tolkoff-Rubin NE, Herrin JT, Cosimi AB, et al. Glomerulopathy associated with cytomegalovirus viremia in renal allografts. N Engl J Med 1981 ; 305 : 57-63.

Rubin RH, Cosimi AB, Tolkoff-Rubin NE, Russell PS, Hirsch MS. Infectious disease syndromes attributable to cytomegalovirus and their significance among renal transplant recipients. Transplantation 1977 ; 24 : 458-64.

Rubin RH. The indirect effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. JAMA 1989 ; 261 [editorial] : 3607-9.

Rubin RH. Infection in the organ transplant recipient. In : Rubin RH, Young LS, Eds. Clinical approach to infection in the immunocompromised host. 3rd ed. New York : Plenum Medical Book Co ; 1994 : 629-705.

Rubin RH. Prevention and treatment of cytomegalovirus disease in heart transplant patients. J Heart Lung Transplant 2000 ; 19 : 731-5.

Sarmiento JM, Dockrell DH, Scwab TR, Munn SR, Paya CV. Mycophenolate mofetil increases cytomegalovirus invasive organ disease in renal transplant patients. Clin Transplant 2000 ; 14 : 136-8.

Simmons RL, Weil R, Tallent MB, Kjellstrand CM, Najarian JS. Do mild infections trigger the rejection of renal allografts ? Transplant Proc 1970 ; 2 : 419-23.

Soghikian MV, Valentine VG, Berry GJ, Patel HR, Robbins RC, Theodore J. Impact of ganciclovir prophylaxis on heart-lung and lung transplant recipients. J Heart Lung Transplant 1996 ; 15 : 881-7.

Stratta RJ. Clinical patterns and treatment of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. Transplant Proc 1993 ; 5 : 15-21.

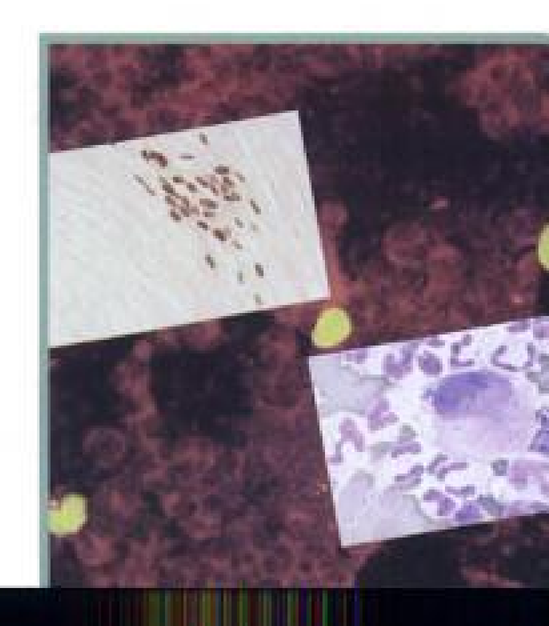
Tong CYW, Bakran A, Williams H, Cheung CY, Peiris JSM. Association of human herpesvirus 7 with cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. Transplantation 2000 ; 70 : 213-6.

Tsevat J, Snydman DR, Pauker SG, Durand-Zaleski I, Werner BG, Levey AS. Which renal transplant patients should receive cytomegalovirus immune globulin ? A cost-effectiveness analysis. Transplantation 1991 ; 52 : 259-65.

Cytomégalovirus

Molécules antivirales actives sur le cytomégalovirus

Laurence Gérard, Dominique Salmon-Céron



Le traitement des infections à cytomégalovirus (CMV) a connu un développement très rapide depuis une quinzaine d'années. Le sida a contribué à stimuler considérablement la recherche de nouveaux médicaments actifs anti-CMV. C'est en 1984 que le premier médicament spécifiquement anti-CMV, le ganciclovir, a été administré chez l'homme avec efficacité. Les travaux ultérieurs permirent sa commercialisation d'abord aux États-Unis, puis en France en 1988. Le deuxième médicament anti-CMV, le foscarnet, a été évalué chez l'homme dès 1985, et commercialisé aux États-Unis puis en France en 1991. Un troisième médicament anti-CMV, le cidofovir, est maintenant disponible et commercialisé depuis 1997. La mise à disposition récente de formes galéniques disponibles par voie orale, dérivées du ganciclovir, représente une réelle avancée thérapeutique.

Malgré ces progrès, les limites de ces médicaments doivent être soulignées. D'une part, ces antiviraux ne sont que virostatiques et leur effet est insuffisant pour éradiquer le CMV de l'organisme, et, d'autre part, chez des patients profondément immunodéprimés tels que les patients infectés par le VIH dans les situations d'échec thérapeutique, ils permettent seulement de retarder les rechutes sans les éviter. Enfin, ils restent des médicaments fortement toxiques. Les recherches doivent se poursuivre pour développer de nouveaux médicaments moins toxiques, ayant une activité antivirale plus puissante.

1. Molécules antivirales

1.1. Ganciclovir

Le ganciclovir ou DHPG ou 9-[1,3-dihydroxy-2-propoxyméthyl] guanine, est un nucléoside synthétique analogue à la 2'-désoxyguanosine qui ne diffère que très peu de l'aciclovir *(figure 1)*. Il est disponible sous plusieurs formes

Figure 1. Structure moléculaire du ganciclovir.

Tableau 1. Molécules antivirales utilisées pour le traitement des infections à cytomégalovirus.

Voie d'administration	Ganciclovir	Valganciclovir	Foscarnet	Cidofovir
Intraveineuse	Perfusion 1 h	–	Perfusion 1 h 30	Perfusion 1 h*
Orale	+**	+	–	–
Locale***	+	–	+	–
Insert intravitréen	+	–	–	–

*Administration de probénécide le jour de la perfusion ; **biodisponibilité inférieure à 10 % ; ***injections intravitréennes.

pharmaceutiques ; une forme pour usage parentéral et une forme orale commercialisées sous le nom de Cymevan® (laboratoire Produits Roche), respectivement en 1988 et 1991, une forme pour injection intravitréenne et sous forme d'implant intravitréen commercialisé sous le nom de Vitrasert® en 1997 (laboratoire Chiron Vision France) *(tableau 1)*.

1.1.1. Activité antivirale et mécanisme d'action

Le ganciclovir inhibe in vitro la réplication des herpèsvirus : CMV, HSV-1, HSV-2, EBV, VZV, HHV-6, HHV-7. La concentration de ganciclovir inhibant de 50 % la réplication virale (CI50) varie entre 2 et 6 µM (0,5 et 1,5 µg/mL) pour les isolats cliniques.

L'action antivirale du ganciclovir est liée à une inhibition sélective de la synthèse de l'ADN viral par la forme triphosphate du produit. La transformation du ganciclovir en son dérivé monophosphate dépend d'une phosphotransférase, codée par le gène *UL97*, exprimée dans toutes les cellules infectées par le CMV. Le dérivé monophosphate est transformé par les kinases cellulaires en ganciclovir di-, puis triphosphate, forme active du produit. Le ganciclovir triphosphate a une action virustatique qui résulte d'une inhibition de la synthèse de l'ADN viral à deux niveaux : inhibition compétitive de l'ADN polymérase virale et inhibition de l'élongation de l'ADN viral *(figure 2)*.

1.1.2. Pharmacocinétique

Chez les sujets à fonction rénale normale, l'administration d'une perfusion d'une heure de ganciclovir à la dose de 5 mg/kg aboutit à un pic sérique de 8,3 µg/mL à la fin de la perfusion. Douze heures après la perfusion, la concentration sérique est inférieure à 0,5 µg/mL. Après administration de 10 mg/kg/j en deux perfusions quotidiennes (schéma posologique habituel), les concentrations au pic varient de 6,5 à 11,5 µg/mL et les concentrations résiduelles de 0,5 à 1,3 µg/mL. L'administration répétée de ganciclovir n'entraîne pas d'accumulation plasmatique. Les concentrations au pic sont donc supérieures à la CI50 de la plupart des souches de CMV, alors qu'en résiduelles elles sont à peu près équivalentes *(tableau 2)*.

La biodisponibilité orale est faible, de l'ordre de 6 à 9 %, justifiant l'administration de fortes doses quotidiennes. Après administration orale de 1 g de ganciclovir

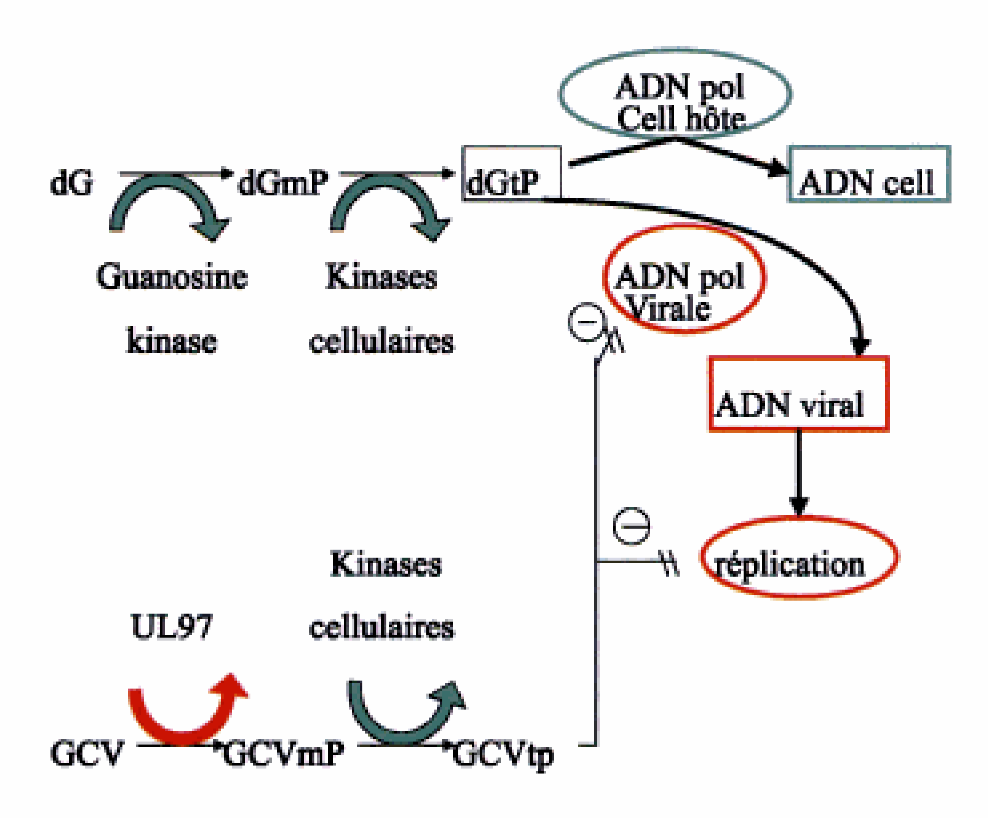


Figure 2. Mécanisme d'action du ganciclovir dans la cellule infectée par le cytomégalovirus. Le ganciclovir triphosphate entre en compétition avec le désoxyguanoside triphosphate.
dG : désoxyguanosine ; dGmP : désoxyguanosine monophosphate ; dGtP : désoxyguanosine triphosphate. GCV : ganciclovir ; GCVmP : ganciclovir monophosphate ; GCVtP : ganciclovir triphosphate ; cell : cellulaire.

Tableau 2. Paramètres pharmacocinétiques du ganciclovir, du valganciclovir, du foscarnet et du cidofovir.

	CI50 sur le CMV (µmol/L)	Cmax* (µg/mL)	Cmin (µg/mL)	Demi-vie plasmatique (heures)	Taux LCR/plasma
Ganciclovir IV	2–5	7,1	0,8	2,9 ± 1,3	24–70 %
Ganciclovir oral	2–5	1,6	0,2	4,8 ± 0,9	–
Valganciclovir	2–5	0,2	–	1,6 ± 0,5	–
Foscarnet IV	20–100	230	< 100	4,5 ± 0,6	13–68 %
Cidofovir IV	0,5–2,8	20 ± 7		17–65**	–

*Après une perfusion de 5 mg/kg/12 h ou 1 g/8 h per os de ganciclovir, 900 mg de valganciclovir, 90 mg/kg/12 h de foscarnet et 5 mg/kg de cidofovir ; **dérivé diphosphate.

1.1.3. Tolérance

Chez l'homme, la principale toxicité du ganciclovir est hématologique. Chez des patients traités par ganciclovir intraveineux pour une rétinite à CMV pendant 3 mois, environ 40 % ont présenté une neutropénie (polynucléaires neutrophiles < 1 000/mm³) et 15 % une thrombopénie (plaquettes < 50 000/mm³). Une anémie (hémoglobine < 8 g/dL) peut également apparaître sous traitement prolongé. Ces effets sont réversibles à l'arrêt du traitement. La tolérance hématologique du ganciclovir oral est meilleure que celle de la forme intraveineuse, sans différence dans les délais de survenue. La prise en charge de la neutropénie du ganciclovir peut faire appel, outre l'adaptation des doses, aux facteurs de croissance hématopoïétiques recombinants.

Une élévation modérée de la créatininémie a été constatée chez 16 % des patients infectés par le VIH traités par ganciclovir intraveineux et 13 % des patients traités par ganciclovir oral, les valeurs restant comprises entre 103 et 220 µmol/L, sans différence en terme de délai de survenue entre les deux formes. Ces anomalies sont réversibles à l'arrêt du traitement.

Les autres effets indésirables cliniques sont principalement d'ordre digestif. Les plus fréquemment retrouvés sont nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales et cytolyse ou cholestase anictérique. La tolérance digestive est identique quelle que soit la voie d'administration. D'autres effets indésirables ont également été signalés : neuropsychiques, malaises, céphalées, fièvre, rashs cutanés. L'administration intraveineuse de ganciclovir impose le plus souvent la mise en place d'une voie d'abord veineuse centrale. Ces cathéters sont une source fréquente de complications infectieuses ou thrombotiques. En cas de surdosage massif, une hémodialyse et une hydratation peuvent être bénéfiques afin de réduire plus rapidement les taux plasmatiques de ganciclovir.

Enfin, les données de toxicologie animale ont mis en évidence une azoospermie, réversible après 4 mois d'arrêt de traitement, une forte embryolétalité chez la souris et une tératogénicité chez la lapine. Un pouvoir cancérigène chez la souris a également été mis en évidence après administration chronique, mais à des doses très supérieures à celles utilisées en clinique.

Les effets indésirables liés aux injections intravitréennes sont rares. Elles sont néanmoins contre-indiquées en cas de troubles graves de l'hémostase. En ce qui concerne les implants, les complications les plus fréquemment rapportées sont liées à l'acte chirurgical. Elles incluent principalement hémorragie intravitréenne, cataracte, décollement de rétine, uvéite, endophtalmie, diminution temporaire de l'acuité visuelle et douleurs oculaires. Le traitement local intravitréen supprime la nécessité de mise en place d'un cathéter veineux central et des risques infectieux qui lui sont associés. Il permet de plus un gain certain en terme de qualité de vie, mais ne prévient ni les localisations controlatérales, ni les localisations extraoculaires de la maladie à CMV.

1.1.4. Modalités d'administration

Le ganciclovir intraveineux est disponible sous forme de lyophilisat à utiliser après dilution dans de l'eau pour préparation injectable, conditionné par flacon de 500 mg. La préparation doit être administrée en perfusion intraveineuse lente de 30 à 60 min, à la dose de 5 mg/kg toutes les 12 h en traitement d'attaque et toutes les 24 h en traitement d'entretien *(tableau 3)*.

Tableau 3. Doses recommandées de ganciclovir et de foscarnet en traitement curatif de la maladie à CMV, chez le sujet à fonction rénale normale.

	Traitement d'attaque	Traitement d'entretien
Ganciclovir	• 5 mg/kg IV toutes les 12 h, pendant 14 à 21 j ou • 400 µg 2 fois/semaine IVT*	• 5 mg/kg/j IV 7 j/7 ou • 6 mg/kg/j IV 5 j/7 ou • 1 g (4 gélules) × 3/j per os* ou • 400 µg/semaine IVT* ou • Implant 4,5 mg*
Valganciclovir	• 900 mg toutes les 12 h per os	• 900 mg/j per os
Foscarnet	• 90 à 100 mg/kg IV toutes les 12 h, pendant 14 à 21 j ou • 2 400 µg 2 fois/semaine IVT*	• 90 à 120 mg/kg/j IV, au moins 5 j/7* ou • 2 400 µg/semaine IVT*
Cidofovir**	5 mg/kg IV toutes les semaines, pendant 2 semaines	• 5 mg/kg IV toutes les 2 semaines* ou • 20 µg/5 à 6 semaines IVT*

IV : intraveineux ; IVT : intravitréen ;* pour les rétinites ; **associé au probénicide 4 g le jour de la perfusion.

Le ganciclovir oral est disponible sous forme de gélules de 250 mg.
L'implant est un dispositif à base de polymères permettant de délivrer le principe actif à travers une membrane semi-perméable. Ce système de diffusion contient 4,5 mg de ganciclovir diffusé à raison en moyenne de 1,4 µg par heure, assurant une efficacité pendant une durée minimale de 3 mois. Il est inséré chirurgicalement dans le segment postérieur de l'œil. L'intervention peut se réaliser en ambulatoire, sous anesthésie locale, sa durée ne dépassant généralement pas 40 min.
Les doses recommandées de ganciclovir en traitement curatif sont résumées dans le *tableau 3*.

1.2. Foscarnet

Le foscarnet, ou acide phosphonoformique, est un analogue des pyrophosphates *(figure 3)*. Il n'est commercialisé que sous sa forme pour usage parentérale, sous le nom de Foscavir® par le laboratoire Astra depuis 1991. Il existe une forme pour usage intravitréen, mais qui n'est pas utilisée en pratique courante.

1.2.1. Activité antivirale et mécanisme d'action

In vitro, le foscarnet inhibe la réplication de tous les herpèsvirus. La CI50 du foscarnet sur le CMV est d'environ 130 µg/mL. Le foscarnet est également actif sur

O O
||
NaO - P - C
|
NaO ONa, $6H_2O$

Figure 3. Structure moléculaire du foscarnet.

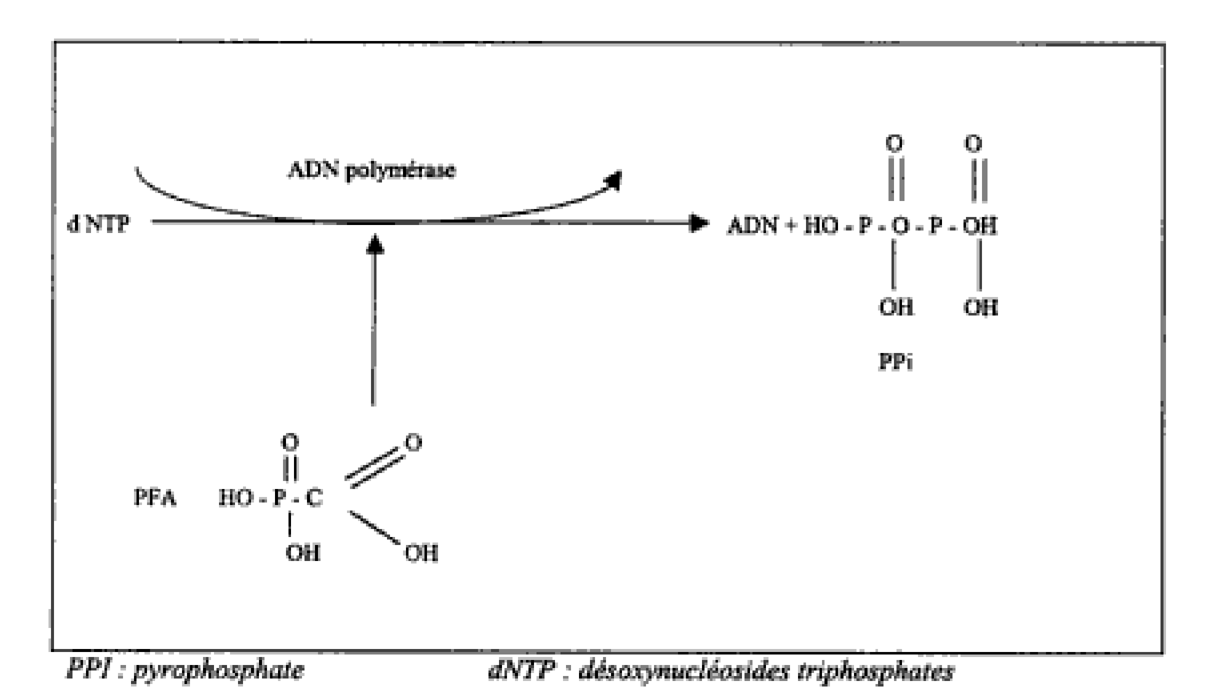


Figure 4. Mécanisme d'action du foscarnet.
PPI : pyrophosphate ; dNTP : désoxynucléosides triphosphates.

le VIH, le virus influenza et le virus de l'hépatite B. Il est actif sur les souches de virus herpès simplex et de CMV résistantes au ganciclovir.

Le foscarnet est un analogue des pyrophosphates qui inhibe sélectivement la réplication virale dans les cellules infectées. Il agit en bloquant directement, et de façon non compétitive, le site du récepteur au pyrophosphate de l'ADN polymérase spécifique ou de la réverse transcriptase, induisant une suppression de la réplication virale. Cette inhibition est virustatique et réversible à l'arrêt du traitement. Contrairement à d'autres agents antiviraux, l'activité antivirale du foscarnet ne nécessite pas de phosphorylation intracellulaire *(figure 4)*.

1.2.2. Pharmacocinétique

Le foscarnet est un composé hydrophile, stable. Une perfusion intraveineuse de 90 mg/kg/12 h conduit à des concentrations plasmatiques à l'équilibre de 220 à 240 µmol/L, proches de celles nécessaires à l'inhibition des herpèsvirus et du VIH. Sa biodisponibilité est faible, de l'ordre de 12 à 22 %, ne permettant

Figure 5. Structure moléculaire du cidofovir

D'autres effets indésirables ont été rapportés avec une moindre fréquence ; des convulsions, des troubles gastro-intestinaux, des céphalées ou des malaises, qui semblent liés aux concentrations plasmatiques du médicament. Le foscarnet n'est généralement pas hématotoxique.

1.2.4. Modalités d'administration

Le foscarnet est disponible sous forme de flacons pour perfusion (24 mg/mL), de 250 mL (6 g) et de 500 mL (12 g). La perfusion doit durer 1 h 30 à 2 h et être associée à une hydratation d'au moins un litre de sérum physiologique lors de chaque perfusion, en prévention de la toxicité rénale. Les doses recommandées en traitement curatif sont de 90 à 100 mg/kg toutes les 12 h en traitement d'attaque et toutes les 24 h en traitement d'entretien *(tableau 2)*.

1.3. Cidofovir

Le cidofovir, ou HPMPC, est un analogue de la cytidine. Il est le premier analogue nucléotidique disponible en clinique humaine *(figure 5)*. Il est commercialisé sous sa forme pour usage parentéral sous le nom de Vistide® par le laboratoire Pharmacia & Upjohn depuis 1997. La forme pour usage intravitréen n'est pas commercialisée.

1.3.1. Activité antivirale et mécanisme d'action

Le cidofovir est actif in vitro sur tous les herpèsvirus, les papovavirus (papilloma et polyoma), les adénovirus, les poxvirus (*Molluscum contagiosum* et Monkey pox) et le virus de l'hépatite B.
Contrairement aux analogues nucléosidiques, comme le ganciclovir, le cidofovir comprend un groupement phosphonate permettant d'éviter la phosphorylation initiale dépendante des enzymes virales. La deuxième phosphorylation dépend

des enzymes cellulaires et non des kinases du CMV (UL97). En outre, il se forme du phosphate de cidofovir-choline. Le cidofovir diphosphate, forme active du produit, inhibe l'ADN polymérase en s'intégrant dans la chaîne d'ADN lors de l'élongation.

1.3.2. Pharmacocinétique

À la fin d'une perfusion de 5 mg/kg, administrée avec du probénécide, la concentration moyenne de produit dans le sérum est de 19,6 µg/mL. Les effets antiviraux prolongés du cidofovir sont dus à la demi-vie des métabolites ; la forme diphosphate subsiste à l'intérieur des cellules avec une demi-vie de 17 à 65 h et le dérivé phosphate choline a une demi-vie de 87 h. Cette longue demi-vie, de 3 à 4 j, permet une administration espacée et représente un incontestable avantage en terme de qualité de vie et d'autonomie. Le volume de distribution à l'équilibre est de 388 mL/kg. Le cidofovir est éliminé principalement par voie rénale sous forme inchangée, à la fois par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire. Aucun métabolite n'a été décelé dans le sérum ou les urines des patients.

La fixation aux protéines plasmatiques est inférieure à 10 %. Il n'existe pas d'interaction médicamenteuse avec le cidofovir lui-même ; en revanche, le probénécide interagit avec le métabolisme ou la sécrétion tubulaire de nombreux médicaments (paracétamol, aciclovir, inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, etc.). Le probénécide diminue la clairance de l'AZT, dont l'administration devra être suspendue ou la posologie réduite de 50 % le jour de la perfusion.

1.3.3. Tolérance

Les effets secondaires du cidofovir sont essentiellement rénaux. Ils peuvent être sérieux, irréversibles, liés à une destruction tubulaire proximale. Les manifestations initiales, à dépister régulièrement, sont : protéinurie (20 %), glycosurie, hypophosphorémie, hypoglycémie, élévation de la créatinine (10 à 15 %). Au maximum, les dégâts rénaux ressemblent à un syndrome de Fanconi et peuvent induire une insuffisance rénale définitive. Dans la majorité des cas, ces atteintes rénales sont néanmoins réversibles à l'arrêt du traitement, après un délai médian de 20 j. Une hydratation saline, l'administration de probénécide (qui bloquerait le captage du cidofovir par le tubule rénal proximal) sont utilisées pour réduire la néphrotoxicité du produit.

La surveillance d'une protéinurie et du ionogramme sanguin avec, en particulier, la mesure de la créatininémie s'impose avant chaque administration de cidofovir. La présence d'une anomalie (protéinurie de deux croix ou élévation de la créatininémie) doit conduire à la suspension du traitement. Ont également été rapportées alopécie, uvéite antérieure, baisse de la pression intraoculaire de l'œil, neuropathie périphérique. Il a été suggéré que les uvéites induites par le cidofovir étaient plus fréquentes chez les patients recevant de façon concomitante un inhibiteur de la protéase du VIH. Le probénécide peut entraîner des effets secondaires chez 35 à 50 % des patients (fièvre, rash, nausées). Au cours du suivi à long terme de patients recevant du cidofovir intraveineux pour une rétinite à CMV, le délai médian d'interruption de traitement pour intolérance a été évalué à 6,6 mois. Le cidofovir présente cependant l'énorme avantage de

pouvoir être administré une fois par semaine en traitement d'attaque, puis deux fois par mois en traitement d'entretien, rendant caduques les cathéters centraux et évitant leurs complications.
L'hypotension intraoculaire est le principal effet indésirable lors d'une administration intravitréenne. Le probénécide minimiserait les effets du cidofovir sur l'épithélium ciliaire, et diminuerait l'hypotension intraoculaire.

1.3.4. Modalités d'administration

Le cidofovir est disponible sous forme de flacon de 5 mL à usage unique, à diluer dans 100 mL de sérum physiologique avant la perfusion. Celle-ci doit durer une heure et être associée à une administration de 4 g de probénécide répartie le jour de la perfusion (2 g [4 comprimés] 3 h avant et 1 g [2 comprimés] 3 h après et 8 h après la perfusion), ainsi qu'à une hydratation de 1 à 2 L de sérum physiologique, en prévention de la toxicité rénale. Avant chaque administration de cidofovir, il est nécessaire de doser la créatinine sérique et le taux de protéines dans les urines. Les doses recommandées en traitement curatif sont de 5 mg/kg toutes les semaines en traitement d'attaque et toutes les 2 semaines en traitement d'entretien *(tableau 3)*.

1.4. Valganciclovir

Le valganciclovir est un promédicament du ganciclovir, administré sous forme orale, développé par le laboratoire Produits Roche *(tableau 1)*. Il est disponible en France depuis récemment dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation avant autorisation de mise sur le marché, sous le nom de Valcyt®. Ce médicament très prometteur pourrait supplanter le ganciclovir intraveineux dans le traitement des rétinites à CMV.

1.4.1. Activité antivirale et mécanisme d'action

Son activité est similaire à celle du ganciclovir avec une CI50 sur le CMV comprise en 1,5 et 5 mm. Il possède également une activité sur les autres virus du groupe herpès et sur le virus de l'hépatite B.

1.4.2. Pharmacocinétique

Cet ester valiné du ganciclovir est rapidement converti en ganciclovir après traversée de la barrière digestive, les taux de ganciclovir sont alors similaires à ceux obtenus par voie intraveineuse. La biodisponibilité est en effet très bonne de l'ordre de 60 % et augmente avec les repas. La concentration est proportionnelle à la dose : après une dose de 900 mg/j, les taux sériques sont similaires à ceux obtenus après une perfusion de 5 mg/kg ; une posologie de 900 mg deux fois par jour donne des taux sériques similaires à ceux obtenus en traitement d'attaque à 10 mg/kg/j *(figure 6)*.

1.4.3. Tolérance

Les premiers résultats de tolérance chez les patients inclus dans les essais cliniques montrent un profil de tolérance identique à celui observé par voie intraveineuse. Les principaux effets indésirables observés sont une neutropénie inférieure à 500/mm^3 chez environ la moitié des patients et une diarrhée chez 10 % des patients.

Le Benzimidavir®, développé par le laboratoire GlaxoSmithKline, bien que de structure très proche, a un mécanisme d'action différent car il inhibe UL97 (des mutants résistants portent des mutations de UL97, ce qui réduit la capacité d'autophosphorylation de UL97 et donc la capacité réplicative de la souche). Il avait montré une tolérance acceptable, une pharmacocinétique satisfaisante et une capacité à réduire le titre viral dans le sperme des patients, mais son développement a été interrompu récemment.

Pour en savoir plus

Bowers M. Cidofovir. BETA 1998 (juillet) ; 41-2.

Crumpacker CS. Ganciclovir. N Engl J Med 1996 ; 335 : 721-9.

Curran M, Noble S. Valganciclovir. Drugs 2001 ; 61 : 1145-50.

De Clercq E. Antiviral drugs : current state of the art. J Clin Virol 2001 ; 22 : 73-89.

Gérard L, Salmon-Céron D. Pharmacokinetic and clinical use of foscarnet. Int J Antimicrob Agents 1995 ; 5 : 209-17.

Jung D, Dorr A. Single-dose pharmacokinetics of valganciclovir in HIV- and CMV-seropositive subjets. J Clin Pharmacol 1999 ; 39 : 800-4.

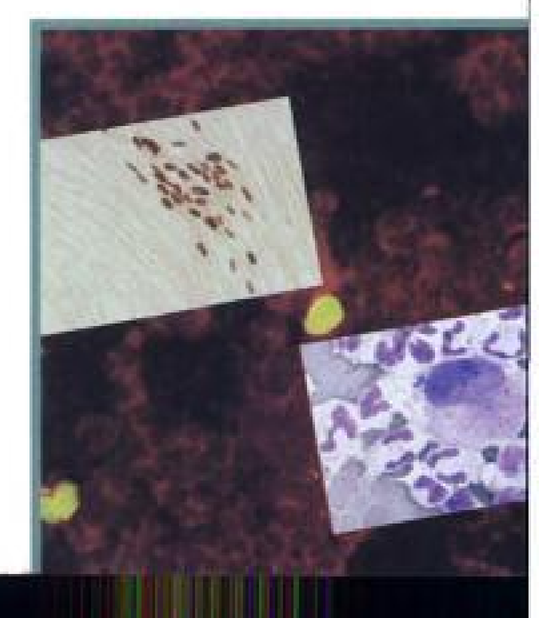
Pescovitz MD, Rabkin J, Merion RM, et al. Valganciclovir results in improved oral absorption of ganciclovir in liver transplant recipients. Antimicrob Agents Chemother 2000 ; 44 : 2811-5.

Safrin S, Cherrington J, Jaffe HS. Cidofovir. Review of current and potential clinical uses. Adv Exp Med Biol 1999 ; 458 : 111-20.

Traitement des infections à CMV chez les patients VIH positifs

Laurence Gérard, Dominique Salmon-Céron

- Traitement curatif des maladies à CMV
- Prévention des infections à CMV
- Résistance



L'infection à cytomégalovirus (CMV) peut mettre en jeu le pronostic fonctionnel ou vital des patients immunodéprimés séropositifs vis-à-vis du VIH et elle nécessite l'administration de traitements antiviraux spécifiques. D'un point de vue thérapeutique, on distingue, d'une part, le traitement curatif de l'infection cliniquement parlante, ou maladie à CMV, avec une phase d'attaque et une phase d'entretien visant à prévenir les rechutes et, d'autre part, le traitement préventif. Le traitement préventif peut être initié lors de la détection de la réactivation virale en l'absence de toute symptomatologie clinique (traitement anticipé dit *preemptive*) ou avant tout signe de réactivation virale chez un patient profondément immunodéprimé à haut risque de développer une maladie à CMV.

1. Traitement curatif des maladies à CMV

1.1. Rétinites

La manifestation la plus fréquente de la maladie à CMV est la rétinite (70 %), qui conduit presque inéluctablement à une perte progressive et irréversible de la vue en moins de 4 mois, en l'absence de traitement.

1.1.1. Ganciclovir

En traitement d'attaque, à la dose de 10 mg/kg par jour en deux prises, il permet d'obtenir une réponse clinique favorable dans 85 %. Il permet en outre l'élimination de l'excrétion du CMV dans les liquides biologiques en 14 j chez 85 % des patients. La durée du traitement d'attaque est assez souvent de 14 j aux États-Unis, tandis qu'en Europe la tendance est de traiter plutôt 3 semaines, voire davantage jusqu'à cicatrisation des lésions (*tableau 1*).
En l'absence de traitement d'entretien ou de correction du déficit immunitaire, les patients ont inéluctablement une rechute de leur rétinite dans un délai de quelques semaines, justifiant un traitement préventif des rechutes.

Tableau 1. Traitement d'attaque de la rétinite à cytomégalovirus.

Molécule antivirale	Posologie	Durée ou nombre d'injections	Effet sur l'œil controlatéral et localisations extra-oculaires
Ganciclovir IV	5 mg/kg x 2/jour	14 jours aux États-Unis 21 jours en Europe*	+
Ganciclovir intravitréen	2 injections (400 µg)/semaine	7 injections	–
Foscarnet IV	90 à 100 mg/kg/12 h	14 à 21 j	+
Cidofovir	5 mg/kg/semaine	2 injections	+
Valganciclovir	En évaluation		+

IV : intraveineux ; *plus long si la cicatrisation des lésions n'est pas obtenue après 21 j.

Tableau 2. Traitement d'entretien de la rétinite à cytomégalovirus

Médicament	Posologie	Durée
Ganciclovir IV	6 mg/kg/j, 5 j/semaine 5 mg/kg/j, 7 j/semaine	• À vie en l'absence de restauration immunitaire • Arrêt si restauration immunitaire suffisante depuis au moins 3 mois
Ganciclovir oral	1 g × 3/j	
Ganciclovir intravitréen	1 injection (400 µg)/semaine	
Ganciclovir implant		
Foscarnet IV	90 à 120 mg/kg/j ; 5 j/semaine	

Le traitement intraveineux d'entretien, à la dose de 6 mg/kg par jour, permet alors de retarder le délai de rechute de 72 à 75 j, qui reste néanmoins court, de 3 à 4 mois en moyenne. D'autres études ont confirmé l'efficacité d'un traitement d'entretien par ganciclovir intraveineux à la dose de 5 mg/kg/j, 5 à 7 j par semaine *(tableau 2)*.

Depuis l'introduction des traitements antirétroviraux actifs, l'incidence des rechutes chez les patients ayant un antécédent de maladie à CMV a considérablement diminué. Jusqu'à récemment, en l'absence de possibilité de contrôle du déficit immunitaire lié au VIH, ce traitement d'entretien devait être poursuivi à vie. Actuellement, la possibilité d'une restauration, même partielle, de l'immunité spécifique anti-CMV grâce aux associations antirétrovirales permet une diminution significative de la virémie CMV en l'absence de traitement anti-CMV spécifique, y compris chez des patients ayant un antécédent de maladie à CMV. Une étude prospective, multicentrique, a montré qu'il était possible d'interrompre la prophylaxie secondaire lorsque le nombre de lymphocytes T $CD4^+$ remontait de façon stable à un taux mettant les patients hors de risque de maladie à CMV (supérieur à 100–150/mm^3 pendant au moins 3 mois). L'arrêt du traitement n'est possible que si les lésions rétiniennes sont cicatrisées, que l'œil controlatéral offre une acuité visuelle correcte et qu'aucun marqueur de réactivation du CMV n'est retrouvé dans le sang, après plusieurs mois de traitement antirétroviral efficace. Une surveillance étroite du fond d'œil et des marqueurs viraux sanguins est alors requise. La durée du traitement d'entretien est donc dorénavant conditionnée par les possibilités de restauration immunitaire.

Le traitement par ganciclovir oral, à la dose de 3 g par jour en trois prises, a reçu une autorisation de mise sur le marché comme alternative au traitement d'entretien intraveineux de la rétinite à CMV. Plusieurs essais cliniques ont montré que la forme orale du ganciclovir avait une efficacité comparable à celle de la forme intraveineuse en prophylaxie des rechutes de rétinites à CMV, stabilisées après traitement d'attaque par voie intraveineuse. Il semble exister une petite différence d'efficacité entre le ganciclovir oral et le ganciclovir intraveineux dans cette indication, avec un délai de progression un peu plus court dans le groupe oral. Ce risque est cependant contrebalancé par l'absence de perfusion

élevée. Elle représente une cause majeure d'échec du traitement. Elle peut être évaluée par des tests phénotypiques et des tests génotypiques. L'étude du phénotype de résistance est déterminée en mesurant la concentration d'antiviral capable d'inhiber de 50 ou de 90 % la réplication virale en culture cellulaire. L'étude génotypique consiste à rechercher des mutations sur les gènes codant la cible de l'antiviral ou les enzymes nécessaires à son activation. Les aspects cliniques et virologiques de la résistance sont traités dans le chapitre « Résistance du cytomégalovirus aux antiviraux » de cet ouvrage.

Pour en savoir plus

Anduze-Faris BM, Fillet AM, Gozlan J, et al. Induction and maintenance therapy of cytomegalovirus central nervous system infection in HIV-infected patients. AIDS 2000 ; 14 : 517-24.

Drew WL, Ives D, Lalezari JP, et al. Oral ganciclovir as maintenance treatment for cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. N Engl J Med 1995 ; 333 : 615-20.

Jacobson MA, Kramer F, Bassiakos Y, et al. Randomized phase I trial of two different combination foscarnet and ganciclovir chronic maintenance therapy regimens for AIDS patients with cytomegalovirus retinitis : AIDS Clinical Trials Group Protocol 151. J Infect Dis 1994 ; 170 : 189-93.

Jouan MA, Saves M, Tubiana R, et al. Discontinuation of maintenance therapy for CMV retinitis in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS 2001 ; 15 : 23-31.

Lalezari JP, Stagg RJ, Kuppermann BD, et al. Intravenous cidofovir for peripheral cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS. Ann Intern Med 1997 ; 126 : 257-63.

Martin DF, Parks DJ, Mellow SD, et al. Treatment of cytomegalovirus retinitis with an intraocular sustained-release ganciclovir implant. Arch Ophtalmol 1994 ; 112 : 1531-9.

Martin DF, Kuppermann BD, Wolitz RA, et al. Oral ganciclovir for patients with cytomegalovirus retinitis treated with a ganciclovir implant. N Engl J Med 1999 ; 340 : 1063-70.

Salmon-Céron D. Current issues in management of cytomegalovirus in HIV-infected patients. HIV Medicine 2001 ; 2 : 255-9.

Spector SA, McKinley GF, Lalezari JP, et al. Oral ganciclovir for the prevention of cytomegalovirus disease in persons with AIDS. N Engl J Med 1996 ; 334 : 1491-7.

Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group in collaboration with the AIDS Clinical Trials Group. Parenteral cidofovir for cytomegalovirus retinitis in patients with AIDS : the HPMPC peripheral cytomegalovirus retinitis trial. Ann Intern Med 1997 ; 126 : 264-74.

Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group in collaboration with the AIDS Clinical Trials Group. Mortality in patients with the acquired immunodeficiency syndrome treated with either foscarnet or ganciclovir for cytomegalovirus retinitis. N Engl J Med 1992 ; 326 : 213-20.

The Oral Ganciclovir European and Australian Cooperative Study Group. Intravenous versus oral ganciclovir : European/Australian comparative study of efficacy and safety in the prevention to cytomegalovirus retinitis recurrence in patients with AIDS. AIDS 1995 ; 9 : 471-7.

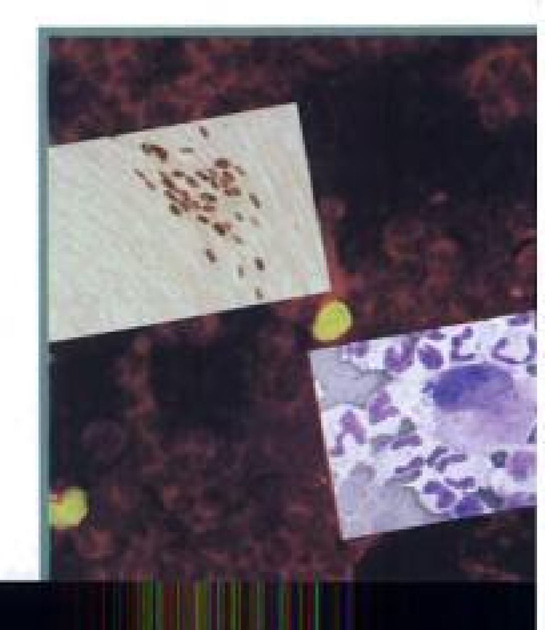
The Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group in collaboration with the AIDS Clinical Trials Group. Long-term follow-up of patients with AIDS treated with parenteral cidofovir for cytomegalovirus retinitis : the HPMPC Peripheral Cytomegalovirus Retinitis Trial. AIDS 2000 ; 14 : 1571-81.

Cytomégalovirus

Traitement de la maladie à cytomégalovirus et greffe de moelle

Noël Milpied

- Traitement de la maladie à CMV
- Prévention
- Perspectives
- Conclusion



L'infection et la maladie à cytomégalovirus (CMV) sont des complications majeures de la greffe de moelle osseuse allogénique avec une incidence respective de 15 à 60 % et de 20 à 35 %. La manifestation la plus fréquente de la maladie à cytomégalovirus est la pneumopathie avec une incidence de 15 % et une mortalité comprise entre 30 et 55 %. Moins souvent, le CMV peut être responsable d'une maladie gastro-intestinale ou de rétinites. La fréquence de cette dernière complication tend à augmenter avec le développement de maladies à CMV tardives après la greffe.

Le principal facteur de risque d'infection ou de maladie à CMV après la greffe est le statut sérologique du patient avant la greffe. Les receveurs séropositifs pour le CMV, quel que soit le statut du donneur, ont le risque le plus élevé d'infection à CMV (par réactivation). Ce risque est beaucoup plus important que chez les receveurs séronégatifs d'un greffon provenant d'un donneur séropositif. Des facteurs moins importants sont représentés par la réaction aiguë sévère du greffon contre l'hôte (GVH), la greffe à partir d'un donneur non apparenté et le retard à la reconstitution d'une réponse lymphocytaire T cytotoxique spécifique du CMV.

1. Traitement de la maladie à CMV

1.1. Ganciclovir

À ce jour, aucun essai randomisé n'a évalué le traitement de la pneumonie à CMV chez les patients recevant une greffe de moelle osseuse. La pratique courante consiste en une association de ganciclovir et d'immunoglobulines polyvalentes ou spécifiques. Elle est basée sur une série d'études non comparatives portant sur un petit nombre de patients *(tableau 1)*. Dans ces études, l'association de ganciclovir et d'immunoglobulines administrées par voie intraveineuse (IV) a augmenté la survie par comparaison à des contrôles historiques qui n'ont reçu aucun traitement ou ont reçu une monothérapie avec l'un ou l'autre des constituants de l'association. Bien qu'il n'existe aucun essai randomisé en double

Tableau 1. Traitement des pneumopathies à CMV après allogreffe de moelle par l'association ganciclovir-immunoglobulines.

	Induction		Entretien		Survie (%)	
Référence	Ganciclovir	IV IG	Ganciclovir	IV IG	6 semaines	6 mois
Emmanuel et al.	2,5 mg/kg x 3/j x 20 j	500 mg/kg/j x 20 j	5 mg/kg x 3-5/semaine 20 doses	500 mg/kg x 2/semaine 8 doses	65	30
Reed et al.	2,5 mg/kg x 3/j x 14 j	400 mg/kg j1-2-7 200 mg/kg j14	5 mg/kg/j 14 j	200 mg/kg j21	48	38
Schmidt et al.	5 mg/kg x 2/j x 21 j	500 mg/kg/j x 21 j	5 mg/kg/j 5 j/7	500 mg x 1/semaine	84	40

IV IG : immunoglobulines administrées par voie intraveineuse.

aveugle comparant les immunoglobulines spécifiques du CMV et les immunoglobulines polyvalentes, ces deux préparations semblent équivalentes dans cette indication. En pratique, le traitement proposé par de nombreux centres de transplantation consiste en l'administration de ganciclovir par voie IV à la posologie de 5 mg/kg deux fois par jour pendant 14 à 21 j puis 5 mg/kg une fois par jour pendant au moins 2 semaines en association avec une préparation d'immunoglobulines. Malgré ce traitement, la mortalité reste encore élevée et dépasse 50 % après 6 mois témoignant d'une efficacité seulement partielle de cette approche thérapeutique, ce qui oblige à chercher des moyens plus efficaces.

1.2. Foscarnet seul ou en association

Quelques études rapportent les résultats d'essais non randomisés de traitement de la maladie à CMV par foscarnet seul ou en association avec le ganciclovir. Le foscarnet en monothérapie semble d'une efficacité limitée pour le traitement de la maladie à CMV ne donnant aucune réponse clinique chez deux patients sur cinq traités pour une entérite à CMV dans une étude. L'association foscarnet (100 mg/kg/j) et ganciclovir (10 mg/kg/j) chez des receveurs de greffe de moelle antigénémiques (pp65) semble plus efficace (en particulier en améliorant la survie) que le foscarnet ou le ganciclovir seul par comparaison avec des contrôles historiques. Cependant, il n'existe à l'heure actuelle aucun essai randomisé correctement bâti permettant d'affirmer que l'association foscarnet plus ganciclovir est supérieure à quelque autre traitement de la maladie à cytomégalovirus. Il faut signaler que le foscarnet peut être une option intéressante chez les patients qui ont une neutropénie profonde.

1.3. Aciclovir

L'aciclovir est totalement inefficace pour traiter les pneumonies à CMV comme le montre une étude dans laquelle huit receveurs de greffe de moelle souffrant d'une pneumonie avaient reçu de l'aciclovir par voie IV à la posologie de 400 à 1 200 mg/m² toutes les 8 h. Leur évolution a été strictement superposable à celle de patients non traités.

1.4. Cidofovir

Aucune étude n'a encore été publiée concernant l'intérêt du cidofovir pour le traitement des infections à CMV.

2. Prévention

Dans la mesure où le traitement de la maladie à CMV reste particulièrement difficile et décevant, une approche de prévention, soit par prophylaxie, soit par traitement anticipé (*preemptive therapy*), apparaît absolument nécessaire. De telles approches nécessitent une connaissance précise des mécanismes de réplication du CMV et la disponibilité de tests de détection du virus suffisamment sensibles pour permettre de prédire l'installation d'une maladie. Ces deux éléments sont traités dans d'autres chapitres de l'ouvrage.

Tableau 2. Prophylaxie des infections à cytomégalovirus chez les receveurs de greffe de moelle. Étude randomisée double aveugle anti-immunoglobulines CMV* contre placebo.

	CMV IG	Placebo	p
Infection CMV (%)	32	43	0,04
Maladie CMV (%)	17	20	NS
Mortalité (%)	33	32	NS

*CMV IG (Cutter Biological) : 200 mg/kg j8 et j6 prégreffe puis une fois par semaine jusqu'à j30 après la greffe; puis deux fois par semaine pour compléter dix doses.

2.1. Prévention de l'acquisition du CMV chez les patients séronégatifs

Le seul moyen de prévenir la contamination d'un patient CMV séronégatif consiste à ne transfuser que des produits sanguins cellulaires non contaminants. Il a été bien montré que l'utilisation de produits sanguins provenant de donneurs séronégatifs pour le CMV chez des patients également séronégatifs permettait d'éviter l'infection à CMV dans 95 % à 100 % des cas. La disponibilité en produits sanguins séronégatifs pour le CMV est quelquefois problématique. Cependant, le problème peut être résolu par l'utilisation des produits sanguins cellulaires filtrés (la règle en France désormais) comme cela a été démontré par l'équipe de Seattle.

2.2. Prophylaxie de l'infection à CMV

Le principe de la prophylaxie est d'administrer un agent antiviral à tous les patients séropositifs pour le CMV dans le but de prévenir l'infection avant l'apparition des marqueurs de la réplication virale (isolement du virus à partir de différents sites, antigénémie pp65, détection d'ADN viral...).

2.2.1. Prophylaxie par les immunoglobulines polyvalentes ou CMV spécifiques

Quatre méta-analyses des essais publiés utilisant des immunoglobulines spécifiques ou polyvalentes donnent des résultats contradictoires. Trois de ces études concluent à l'efficacité de l'immunothérapie passive pour réduire l'incidence des maladies à CMV, une étude met en doute cette efficacité. Un essai randomisé en double aveugle d'immunoglobulines CMV spécifiques contre placebo montre une réduction de l'incidence des infections à CMV mais aucun effet sur l'incidence de la maladie à CMV *(tableau 2)*. Plusieurs raisons peuvent expliquer ces discordances. D'abord, le titre des anticorps anti-CMV est très variable d'une préparation commerciale à une autre et même entre différents lots du même produit. Ensuite, le titre des anticorps neutralisants qui semble d'une importance cruciale est également grandement variable d'un produit à un autre. Enfin, l'immunité humorale est bien moins efficace que l'immunité cellulaire pour contrôler l'infection à CMV. Aussi, en l'absence de preuves convaincantes que les immunoglobulines, par ailleurs coûteuses, sont efficaces pour prévenir l'infection à CMV, leur utilisation en monothérapie dans cette indication ne peut pas être recommandée.

Tableau 3. Essai randomisé européen. Prophylaxie par aciclovir à forte dose.

	Groupe A* (105 Pts)	Groupe B* (103 Pts)	Groupe C* (102 Pts)	Significativité
Infection à CMV (%)	52	49	61	A ct C : $p = 0,046$ B ct C : $p = 0,024$
Virémie à CMV (%)	24	36	36	NS
Maladie à CMV (%)	8	14	11	NS
Survie (%)	75	63	59	A ct C : $p = 0,012$ A ct B : $p = 0,054$

Pts : patients, ct : contre, NS : non significatif ; *les modalités d'administration de l'aciclovir sont détaillées dans le texte ; les pourcentages correspondent à une analyse actuarielle à 7 mois après la greffe.

2.2.2. Prophylaxie par aciclovir et dérivés

Dès 1983, E. Gluckman et al. apportaient une réduction significative de l'incidence de l'infection à CMV consécutive à l'administration d'aciclovir de j8 à j35 après la greffe comparativement à un placebo. L'équipe de Seattle a ensuite évalué l'intérêt de l'aciclovir à hautes doses par voie IV (500 mg/m^2 × 3/j) de j5 à j30 après la greffe chez des patients séropositifs pour le CMV. La probabilité d'infection à CMV était de 59 % chez ceux qui avaient reçu l'aciclovir et de 75 % chez ceux qui n'en n'avaient pas reçu ($p < 0,0001$). Cette étude montrait également une amélioration de la survie à j100 après la greffe chez les patients ayant reçu l'aciclovir (80 % contre 40 %).

Une grande étude randomisée, en double aveugle, a comparé trois protocoles d'administration d'aciclovir chez 310 receveurs de greffe de moelle, CMV séropositifs (ou CMV séronégatifs avec donneur CMV séropositif). Les trois protocoles étaient les suivants : le groupe A recevait aciclovir par voie IV (500 mg/m^2 × 3/j) de j5 à j30 puis aciclovir par voie orale (PO) (800 mg × 4/j) jusqu'à j210, le groupe B, aciclovir par voie IV (500 mg/m^2 × 3/j) de j5 à j30 puis placebo PO jusqu'à j210 et le groupe C, aciclovir PO (200 mg ou 400 mg × 4/j) de j5 à j30 puis placebo PO jusqu'à j210. Le risque d'infection à CMV a été réduit et la survie améliorée dans le groupe A (aciclovir à forte dose) par rapport au groupe C (aciclovir à faible dose) *(tableau 3)*. L'incidence de maladie à CMV n'a cependant pas été modifiée significativement. Compte tenu de ces résultats, quelques équipes utilisent l'aciclovir par voie IV à forte dose comme traitement prophylactique des infections à CMV chez des receveurs séropositifs pour le CMV. En France, l'aciclovir n'a pas d'AMM pour cette indication.

Le valaciclovir (L. valyl ester de l'aciclovir) par voie orale permet l'obtention de concentrations plasmatiques d'aciclovir superposables à celles obtenues par l'administration par voie IV de fortes doses d'aciclovir, y compris chez les patients neutropéniques. L'intérêt de ce promédicament a été testé dans un essai randomisé double aveugle après greffe de moelle osseuse. Dans cet essai, tous les patients recevaient de l'aciclovir par voie IV (500 mg/m^2 × 3/j) de j5 à

Tableau 4. Étude randomisée double aveugle valaciclovir contre aciclovir.

	Aciclovir IV* puis valaciclovir +	Aciclovir IV* puis aciclovir PO ++	p
CMV LBA**, sang ou maladie (%)	28	40	< 0,0001
Décès (%)	15	18	NS

*Aciclovir IV: 500 mg/m² x 3/j : j5 à j28 ; **LBA : lavage broncho-alvéolaire ; + : valaciclovir: 2 000 mg x 4/j : j28 à j126 ; ++ : aciclovir PO : 800 mg x 4/j : j28 à j126.

j28). Le valaciclovir (2 g × 4/j) ou l'aciclovir (800 mg × 4/j) PO étaient débutés à j28 après la greffe. L'incidence d'infections à CMV a été significativement réduite chez les patients qui ont reçu l'aciclovir à fortes doses par voie IV puis le valaciclovir *(tableau 4)*.

L'aciclovir est phosphorylé par le produit du gène *UL97* du CMV. Les deux études utilisant l'aciclovir à fortes doses par voie IV puis l'aciclovir oral ou le valaciclovir suggèrent que l'exposition prolongée à des concentrations élevées d'aciclovir (obtenues par l'aciclovir IV à 500 mg/m² × 3/j et le valaciclovir à 2 g × 4/j) peut permettre une suppression efficace du CMV au prix d'une faible toxicité. Néanmoins, l'efficacité de l'aciclovir est généralement considérée comme inférieure à celle du ganciclovir bien qu'il n'existe à ce jour aucun essai comparatif entre les deux médicaments.

2.2.3. Prophylaxie par ganciclovir

L'intérêt d'une prophylaxie par ganciclovir a été publié pour la première fois en 1991 par Atkinson et al. Dans cette étude, les patients traités par ganciclovir (5 mg/kg × 2/j de j2 à j1 puis 5 mg/kg × 3/semaine de j21 à j84) ont eu moins d'infections à CMV que des contrôles historiques. Trois études randomisées contre placebo ont par la suite permis de mesurer le rapport bénéfice/risque d'une telle approche *(tableau 5)*. Ces trois études montrent que la prophylaxie par ganciclovir diminue le taux d'infection à CMV et de maladie à CMV. En aucun cas, il n'y a d'amélioration de la survie grâce à la prophylaxie.

Ce bénéfice de la prophylaxie par ganciclovir doit être mis en balance avec au moins deux inconvénients : les neutropénies induites d'une part et les infections tardives à CMV d'autre part. Dans les essais randomisés contre placebo, la neutropénie sévère s'est avérée être un facteur limitant l'utilisation prophylactique du ganciclovir ; dans deux de ces essais, la neutropénie a été le seul effet secondaire statistiquement plus fréquent avec le ganciclovir qu'avec le placebo. La conséquence de la neutropénie induite est une fréquence plus élevée d'infections bactériennes et/ou fongiques dont on connaît la morbidité, la mortalité et le coût. La réduction de la posologie de ganciclovir dans le but de réduire l'incidence des neutropénies n'a pas été évaluée de façon contrôlée. De plus, une telle stratégie peut s'avérer inefficace chez les patients qui ont une GVH ou qui ont reçu un greffon déplété en lymphocytes T. La neutropénie peut être corrigée par l'administration de facteurs de croissance hématopoïétiques recombinants.

Une incidence élevée d'infections tardives à CMV (après j100, quand la prophylaxie est arrêtée) est désormais décrite. Ceci représente une modification

Tableau 5. Prophylaxie des infections à CMV : essais randomisés en double aveugle ganciclovir contre placebo.

Référence	Posologie	Résultats			
Winston et al.	• j7 à j1 2,5 mg/kg x 3/j • Prise de greffe à j120 : 6 mg/kg/j 5 j/7		Ganciclovir	Placebo	*p*
		Infection CMV (%)	20	56	< 0,001
		Maladie CMV (%)	10	24	0,09
		Mortalité (%)	30	36	NS
		Neutropénie (%)	58	28	0,005
Goodrich et al.	À partir de la prise de greffe : 5 mg/kg x 2/j x 5 j puis : 5 mg/kg/j → j100	Infection CMV (%)	3	45	< 0,001
		Maladie CMV (%)	0	29	0,001
		Mortalité (%)	12	19	NS
		Neutropénie (%)	33	0	0,001
		Infection bactérienne ou fongique (%)	45	29	NS
		Infection bactérienne ou fongique pendant la neutropénie induite par le ganciclovir (%)		RR = 4,3	0,02
Boeckh et al.*	À partir de la prise de greffe : 5 mg/kg x 2/j x 5 j puis : 5 mg/kg/j 6 j/7 → j120	Infection CMV (%)	41	79	NP
		Maladie CMV (%)	3	14	0,002
		Mortalité (%)	13	16	NS
		Infection fongique invasive (%)	16	6	0,03
		Neutropénie (%)	25	32	NS

*Dans cet essai, les patients antigénémiques (= trois cellules pp65 positives sur deux lames) recevaient, par protocole, ganciclovir 5 mg/kg x 2/j 7 j puis 5 mg/kg/j pendant 3 semaines.

importante de l'épidémiologie puisque ces infections surviennent entre 3 mois et 1 an après la greffe, alors qu'avant l'utilisation large de la prophylaxie par ganciclovir, le pic de fréquence s'établissait entre j45 et j60. De plus, des manifestations cliniques rarement observées précocement après la greffe, telles que des rétinites, sont désormais décrites au cours de ces infections tardives. Il est possible que ces infections tardives soient la conséquence d'un retard à la (re)constitution d'une immunité cellulaire T spécifique du CMV, induit par la prophylaxie débutée lors de la prise de greffe. Le ganciclovir exerce ses effets antiviraux lors de l'étape de réplication de l'ADN viral empêchant les cellules infectées d'exprimer le répertoire complet des gènes nécessaires à la réplication et à la formation de nouveaux virions. Or, c'est contre les produits de ces gènes que la réponse T cytotoxique est dirigée. Par conséquent, les patients qui reçoivent du ganciclovir sont peut-être incapables de reconstituer une réponse T protectrice.

Ces deux inconvénients obligent à penser d'autres stratégies telles que traitement anticipé plus que prophylactique et reconstitution de l'immunité T spécifique par thérapie cellulaire. Ces stratégies sont évoquées plus loin.

2.2.4. Prophylaxie par foscarnet

Il n'existe pas d'étude randomisée évaluant l'intérêt en prophylaxie du foscarnet contre placebo ou contre d'autres antiviraux. Deux études non contrôlées

Tableau 6. Prophylaxie des infections à CMV : rôle du foscarnet.

Référence	Nombre de patients	Dose foscarnet (mg/kg/j)			Antigène pp65 détecté	Toxicité
			j1–j30	j31–j100		
Bregante et al.	20	Palier I	60	30	33%	15/20*
		Palier II	120	60		Arrêt du traitement pour toxicité 9/20
	21	Palier III	120	90	0%	
		Palier IV	120	120		
Ordemann et al.		j11–j16 90 mg/kg x 2/j		j17–j60 90 mg/kg x 3/semaine	28%	17/21** Arrêt du traitement pour toxicité 6/21

*Néphrotoxicité ; **troubles digestifs, céphalées, urétrite.

rapportent une efficacité, peut-être dose dépendante, au prix d'une toxicité notamment rénale, réversible, mais problématique chez des patients qui reçoivent de nombreux agents néphrotoxiques *(tableau 6)*. Sur la base de ces études limitées, il n'est pas possible de recommander l'utilisation prophylactique du foscarnet, sauf dans des cas où l'intolérance au ganciclovir est avérée.

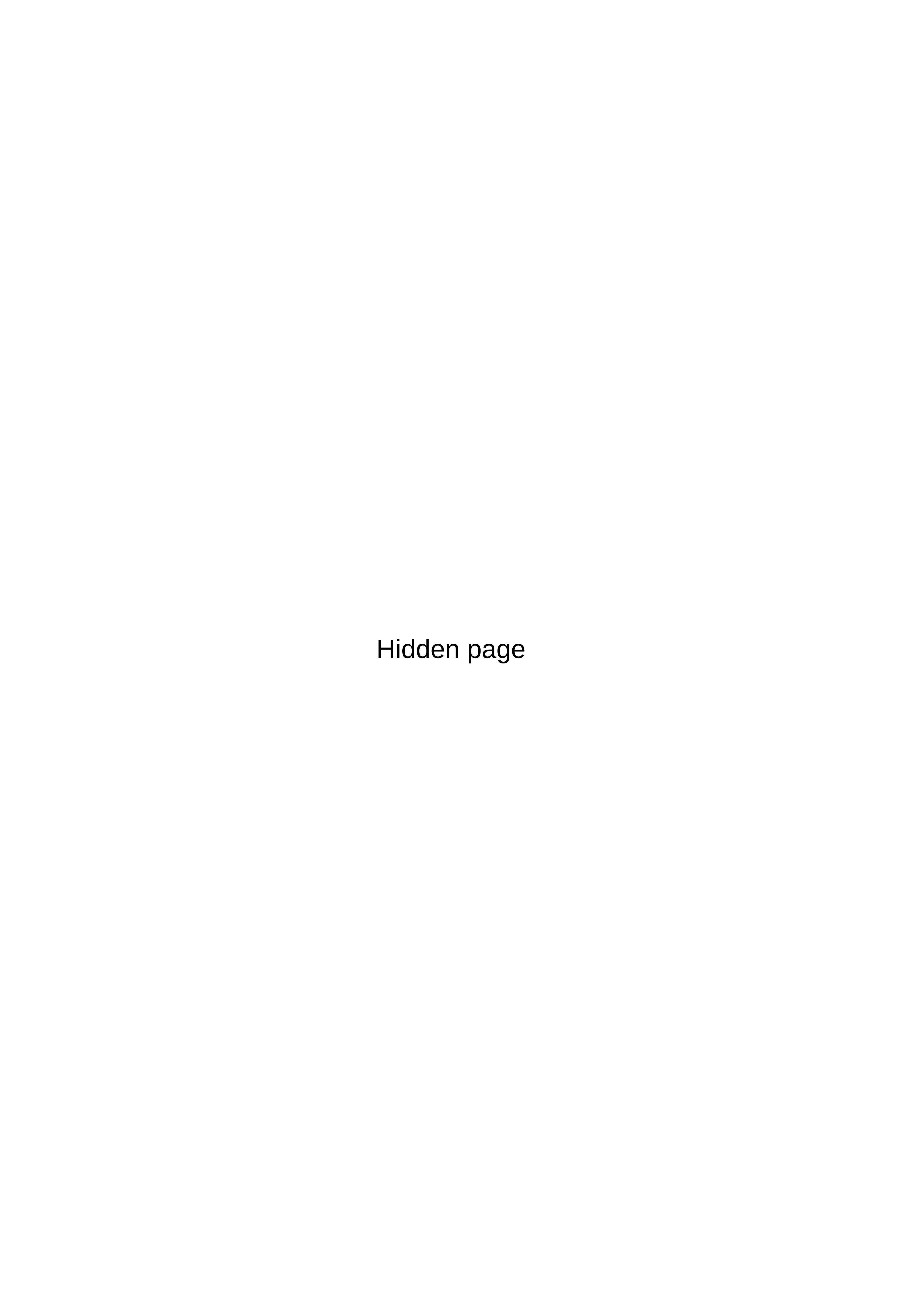
2.3. Traitement anticipé

Le principe du traitement anticipé (*preemptive therapy*) est d'administrer un agent antiviral actif contre le CMV (ganciclovir ou foscarnet) quand le CMV est détecté dans le sang ou le liquide de lavage alvéolaire, sur des prélèvements systématiques, avant le développement d'une maladie à CMV.

Cette attitude a été adoptée à la suite de l'identification de la virémie à CMV comme un facteur prédictif puissant de maladie à CMV. Le traitement par ganciclovir de patients chez lesquels une souche de CMV était isolée dans le lavage alvéolaire réalisé systématiquement à j35 après la greffe a permis de réduire de 50 % la mortalité due à une pneumopathie à CMV dans l'étude de Schmidt et al. Dans cette étude, beaucoup des patients qui avaient un lavage positif étaient également virémiques. Le caractère invasif de la fibroscopie bronchique systématique fait préférer la recherche d'un marqueur sanguin d'infection active à CMV comme indicateur du risque de maladie et du début du traitement. Les études les plus importantes visant à évaluer l'impact d'un traitement anticipé ont utilisé trois méthodes : la culture rapide, la détection d'une antigénémie pp65 ou la détection du génome viral par PCR.

2.3.1. Traitement anticipé contre placebo basé sur la culture rapide

Les patients recevaient du ganciclovir ou un placebo (double aveugle) lors de la détection de CMV dans la gorge, les urines ou le sang. Cette étude a montré la justesse de la stratégie (réduction de la maladie à CMV de 43 à 7 %



Hidden page

cellules positives par lame pour débuter le traitement et, d'autre part, un arrêt du traitement basé sur la négativité du test chez les patients présentant une GVH sévère. Une modification de la stratégie par l'introduction du traitement dès la positivité du test (quel que soit son niveau) et la poursuite du traitement jusqu'à 100 j en cas de GVH sévère ont permis de réduire l'incidence de maladie à CMV. La stratégie de traitement anticipé par ganciclovir a permis de réduire la probabilité de développer une infection fongique avant j100 par rapport à un traitement prophylactique de 16 à 6 % ($p = 0,03$). À noter que la modification de stratégie n'a pas modifié cet effet bénéfique du traitement anticipé.

Au total, le traitement anticipé par ganciclovir guidé par l'antigénémie pp65 ou la PCR permet une introduction plus précoce d'un médicament efficace et est associé à de meilleurs résultats qu'un traitement anticipé guidé par la culture rapide. Une étude a montré une sensibilité équivalente des deux méthodes (détection de l'antigénémie pp65 et PCR). Le traitement anticipé est au moins aussi efficace que la prophylaxie pour prévenir la maladie à CMV et permet de réduire significativement l'incidence des neutropénies induites et de leurs complications infectieuses en particulier fongiques.

2.3.4. Durée du traitement anticipé

La durée du traitement anticipé varie notablement d'un essai à un autre. Dans l'essai de Goodrich et al., la durée moyenne de traitement était de 6 à 8 semaines, mais des durées plus courtes (2 ou 3 semaines) ont été rapportées. Il est difficile de tirer des conclusions précises mais il est important de noter que les traitements courts sont associés à un taux de récidive élevé (jusqu'à 30 %) et à l'émergence précoce de maladies à CMV. Il semble raisonnable de recommander un traitement d'au moins 2 semaines ou jusqu'à la négativation de la recherche d'antigénémie ou de la PCR en l'absence de GVH sévère.

2.3.5. Traitement anticipé par foscarnet

Il n'existe qu'un seul essai publié randomisé de traitement par foscarnet (90 mg/kg × 2/j) contre ganciclovir (5 mg/kg × 2/j) débuté dès la détection de l'antigénémie. Cet essai, qui porte sur un petit nombre de patients, montre une efficacité équivalente et une tolérance équivalente des deux drogues.

Un grand essai international a été réalisé dont les résultats ne sont pas encore publiés.

3. Perspectives

L'évaluation précise de la sensibilité et de l'utilité de méthodes de quantification de la charge virale doit être poursuivie dans le cadre des greffes de cellules souches hématopoïétiques. S'il a été bien montré une relation entre charge virale (mesurée par PCR quantitative) et risque de maladie à CMV, il reste à évaluer l'utilité de ces méthodes dans le contexte de l'évolution actuelle des techniques de greffe de cellules souches hématopoïétiques : greffe avec sélection CD34+ ou T déplétion, greffe à conditionnement non myéloablatif, greffes de sang placentaire au cours desquelles l'immunité résiduelle anti-CMV est probablement plus altérée qu'au cours des greffes traditionnelles avec un risque plus élevé de

maladie à CMV pour des charges virales faibles qui ne sont peut-être pas détectées par les techniques actuellement utilisées.

Clairement, l'objectif de reconstituer une immunité cellulaire T spécifique du CMV est crucial pour espérer s'affranchir des problèmes de réactivation tardive consécutive aux traitements prophylactiques ou anticipés prolongés, voire pour éviter les infections à CMV dans le cadre de greffes avec greffon manipulé.

Une étude de phase I a évalué la faisabilité et la tolérance du transfert de lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ (CTL) spécifiques du CMV chez 14 patients. L'injection de quantités croissantes de CTL ($3,3 \times 10^7/m^2$ à $1 \times 10^9/m^2$) à partir de j28–j35 après la greffe a été bien tolérée. Ces injections ont permis de restaurer une réponse lymphocytaire T $CD8^+$ durable chez tous les patients. Aucun des patients n'a été virémique ou n'a développé de maladie à CMV après les injections. L'absence de reconstitution d'une réponse lymphocytaire T $CD4^+$ spécifique de CMV a entraîné une extinction progressive de la réponse lymphocytaire T $CD8^+$. Une étude de phase II comportant la co-injection de lymphocytes T $CD4^+$ et $CD8^+$ anti-CMV est en cours dans cette équipe.

Ces essais sont prometteurs mais il reste un certain nombre d'obstacles à surmonter, en particulier il reste à améliorer les méthodes de génération in vitro des cellules CMV spécifiques pour obtenir une production rapide, facile et en toute sécurité.

Enfin, il faut noter qu'il peut y avoir un risque à utiliser de telles cellules après l'installation d'une maladie à CMV, risque de toxicité en particulier pulmonaire comme cela a été montré dans des modèles animaux.

4. Conclusion

D'importants efforts ont été réalisés au cours des 20 dernières années pour identifier les patients à risque d'infection et de maladie à CMV. De multiples essais thérapeutiques ont permis de préciser les modalités optimales de traitement et surtout de prévention de l'installation d'une maladie à CMV. La conséquence de ces efforts est une quasi-disparition de la mortalité liée au CMV après greffe de moelle.

Actuellement, il est possible de prévenir l'acquisition du CMV grâce à l'utilisation de produits sanguins cellulaires non contaminants. La prophylaxie antivirale est efficace de même que le traitement anticipé guidé sur des techniques modernes de détection du CMV. Privilégier la prophylaxie médicamenteuse ou le traitement anticipé reste une question ouverte. Il paraît cependant possible de préconiser une prophylaxie si elle utilise des médicaments dénués de toxicité hématologique (aciclovir ou valaciclovir) en association avec un traitement anticipé en cas de démonstration d'une infection virale active. Une prophylaxie par ganciclovir paraît recommandable si l'on ne dispose pas de méthodes de détection sensibles (antigénémie pp65 ou PCR). Le problème de la survenue des infections tardives à CMV consécutives à une administration prolongée d'antiviraux efficaces ou à des situations d'immunodépression particulièrement profonde reste entier. Le futur repose peut-être sur l'utilisation du transfert adoptif de cellules immunocompétentes spécifiques du CMV.

Pour en savoir plus

Aschan J, Ringden O, Ljungman P, et al. Foscarnet for treatment of cytomegalovirus infections in bone marrow transplant recipients. Scand J Infect Dis 1992 ; 24 : 143-50.

Atkinson K, Downs K, Golenia M, et al. Prophylactic use of ganciclovir in allogeneic bone marrow transplantation : absence of clinical cytomegalovirus infection. Br J Haematol 1991 ; 79 : 57-62.

Atkinson K, Arthur C, Bradstock K, et al. Prophylactic ganciclovir is more effective in HLA-identical family member marrow transplant recipients than in more heavily immune-suppressed HLA-identical unrelated donor marrow transplant recipients. Australian Bone Marrow Transplant study group. Bone Marrow Transplant 1995 ; 16 : 401-5.

Bacigalupo A, Bregante S, Tedone E, et al. Combined foscarnet ganciclovir treatment for cytomegalovirus infections after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. Transplantation 1996 ; 62 : 376-80.

Badas A, Stoukides CA. Guidelines for prophylaxis of cytomegalovirus disease in bone marrow transplant patients. Ann Pharmacother 1996 ; 30 : 1483-6.

Bass EB, Powe NR, Goodman SN, et al. Efficacy of immune globulin in preventing complications of bone marrow transplantation : a meta analysis. Bone Marrow Transplant 1993 ; 12 : 273-82.

Boeckh M. Management of cytomegalovirus infections in blood and marrow transplant recipients. Adv Exp Med Biol 1999 ; 458 : 89-109.

Boeckh M, Gooley TA, Myerson D, et al. Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftmen after allogeneic marrow transplantation : a randomized double-blind study. Blood 1996 ; 88 : 4063-71.

Boeckh M, Bowden RA, Gooley T, et al. Successful modification of a pp65 antigenemia-based early treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease in allogeneic marrow transplant recipients [letter]. Blood 1999 ; 93 : 1781-2.

Bowden RA, Sayers M, Flournoy N, et al. Cytomegalovirus immune globulin and seronegative blood products to prevent primary cytomegalovirus infection after marrow transplantation. N Engl J Med 1986 ; 314 : 1006-10.

Bowden RA, Sayers MH, Cays M, Slichter SJ. The role of blood product filtration in the prevention of transfusion associated cytomegalovirus (CMV) infection after marrow transplant. Transfusion 1989 ; 29 : 5205-10.

Bowden RA, Fischer LD, Rogers K, et al. Cytomegalovirus (CMV)-specific intravenous immunoglobulin for the prevention of primary CMV infection and disease after marrow transplant. J Infect Dis 1991 ; 164 : 483-7.

Bowden RA, Slichter SJ, Sayers M, et al. A comparison of filtered leukocyte-reduced and cytomegalovirus (CMV) seronegative blood products for the prevention of transfusion-associated CMV infection after marrow transplant. Blood 1995 ; 86 : 3598-603.

Bregante S, Bertilson S, Terone E, et al. Foscarnet prophylaxis of cytomegalovirus infection in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation (BMT). A dose finding study. Bone Marrow Transplant 2000 ; 26 : 23-9.

Cannon MJ, Openshaw PJ, Askonas BA. Cytotoxic T cells clear virus but augment lung pathology in mice infected with respiratory syncytial virus. J Exp Med 1988 ; 168 : 1163-8.

Crippa F, Corey L, Chuang EI, et al. Virological, clinical, and ophtalmic features of cytomegalovirus retinitis after hematopoietic stem cell transplantation. Clin Infect Dis 2001 ; 32 : 214-9.

Drobyski WR, Knox KK, Carrigan DR, et al. Foscarnet therapy of ganciclovir-resistant cytomegalovirus in marrow transplantation. Transplantation 1991 ; 52 : 155-157.

Ebart H, Kanz L, Jahn G, et al. Management of cytomegalovirus infection after solid-organ or stem-cell transplantation current guidelines and future prospects. Drugs 1998 ; 55 : 59-72.

Wade JC, Hintz M, McGkuffin R, et al. Treatment of cytomegalovirus pneumonia with high-dose acyclovir. Am J Med 1982 ; 73 : 249-56.

Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, et al. Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. N Engl J Med 1995 ; 334 : 601-6.

Weller S, Blum M, Doucette M. Pharmacokinetics of the aciclovir pro-drug valaciclovir after escalating single and multiple-dose administration to normal volunteers. Clin Pharmacol Ther 1994 ; 54 : 595-601.

Wingard JR, Piantadosi S, Burns WH, et al. Cytomegalovirus infections in bone marrow transplant recipients given intensive cytoreductive therapy. Rev Infect Dis 1990 ; 12 (suppl 7) : S793-S804.

Winston DJ, Ho WG, Barthony K, et al. Ganciclovir prophylaxis of cytomegalovirus infection and disease in allogeneic bone marrow transplant recipients. Results of a placebo controlled, double blind trial. Ann Intern Med 1993 ; 118 : 179-84.

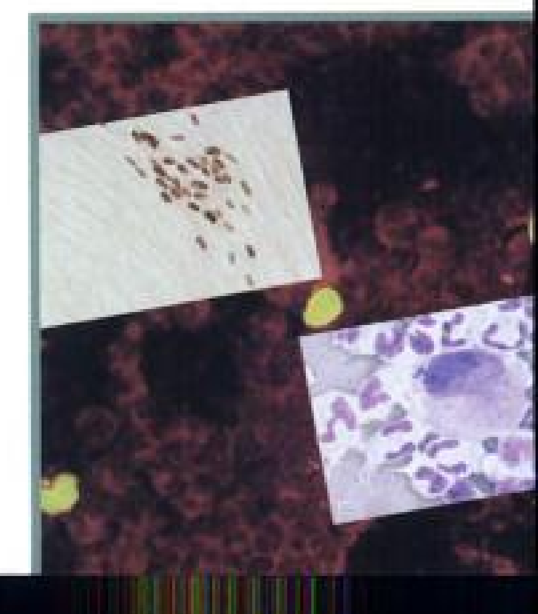
Wittes JT, Kelly A, Plante KM. Meta-analysis of CMV IG studies for the prevention and treatment of CMV infection in transplant patients. Transplant Proc 1996 ; 28 : 17-24.

Zimmermann A, Michel D, Pavic I, et al. Phosphorylation of aciclovir, ganciclovir, penciclovir and S2242 by the cytomegalovirus UL97 protein : a quantitative analysis using recombinant vaccinia viruses. Antivir Res 1997 ; 36 : 35-42.

Traitement de l'infection à CMV chez le receveur de greffe d'organe

Christophe Legendre

- Traitement curatif
- Traitement préventif
- Conclusion



En transplantation d'organe, le traitement de l'infection à CMV, symptomatique ou non, qu'il soit curatif ou préventif, repose essentiellement sur les antiviraux, le ganciclovir et le valaciclovir principalement. Nous envisagerons donc, dans un premier temps, les modalités du traitement curatif puis, dans un second temps, les différentes stratégies de prévention de cette infection.

1. Traitement curatif

Le traitement curatif de l'infection symptomatique ou maladie à CMV a été radicalement transformé par la disponibilité, à partir de 1985, de deux antiviraux efficaces et relativement bien tolérés, le ganciclovir d'une part et le foscarnet d'autre part.

En ce qui concerne le ganciclovir, utilisé par voie intraveineuse, son efficacité a été bien démontrée dans plus de 30 études non contrôlées et non randomisées. Les modalités pratiques du traitement curatif sont relativement homogènes : la dose recommandée est de 5 mg/kg deux fois par jour, à perfuser sur une période de 1 h. La dose est adaptée à la fonction rénale évaluée par la formule de Cockcroft-Gault :

– clearance de la créatinine > 50 mL/min = 5 mg/kg/12 h
– clearance de la créatinine < 50 mL/min = 2,5 mg/kg/12 h
– clearance de la créatinine < 25 mL/min = 2,5 mg/kg/24 h
– clearance de la créatinine < 10 mL/min = 1,25 mg/kg/24 h

La durée du traitement est en revanche variable d'un centre à l'autre de 2 à 4 semaines, la plupart des équipes utilisant une durée de 2 semaines. Le traitement est interrompu soit empiriquement après une période de temps donnée, soit après avoir obtenu la disparition dans le sang périphérique des marqueurs viraux d'infection (antigénémie pp65 ou ADN viral), ce qui diminue probablement, d'une part, le risque de rechute et, d'autre part, celui de développement de souches résistantes au ganciclovir.

Les rechutes après un premier épisode traité par ganciclovir sont fréquentes et leurs caractéristiques ont été longtemps méconnues bien que, dans l'étude initiale, 79 % des patients aient présenté une rechute. On estime que le risque de rechute est de 20 à 40 %, sans doute supérieur en cas de primo-infection à CMV. La prévention des rechutes repose sur l'obtention de la clearance du CMV à la fin du traitement de l'épisode initial et l'utilisation du ganciclovir oral pendant une période prolongée (jusqu'à 3 mois) bien que cette attitude ne soit pas validée et expose peut-être au risque d'émergence de souches résistantes au ganciclovir.

L'utilisation du ganciclovir, par voie orale, pour traiter l'infection symptomatique à CMV n'est pas validée et ne peut donc pas être recommandée.

Le foscarnet est peu utilisé en transplantation d'organes en raison de sa neurotoxicité et de sa néphrotoxicité. Celle-ci est toutefois considérablement diminuée par une hydratation correcte. La dose est de 180 mg/kg/j en trois perfusions de 60 minutes, avec une hydratation de 500 à 1 000 cc par perfusion de sérum salé isotonique. Cette dose est à adapter à la fonction rénale. Le foscarnet est actuellement réservé aux formes de plus en plus fréquentes de maladie à CMV résistantes au ganciclovir.

L'autre traitement des formes résistantes au ganciclovir est le cidofovir, lui aussi très néphrotoxique.

Enfin, dans les formes sévères, en particulier lorsqu'il existe une localisation pulmonaire ou dans les formes cliniquement résistantes au ganciclovir, de nombreuses équipes utilisent des gammaglobulines soit anti-CMV, soit standard, bien que là encore, le bénéfice réel ne soit pas démontré.

2. Traitement préventif

À partir du milieu des années 80, un immense effort de prévention a été initié à l'instigation des greffeurs de moelle. À l'heure actuelle, de nombreuses possibilités de prévention existent qui permettent de définir une véritable stratégie de prévention de l'infection à CMV. Cette prévention a, d'une part, modifié la présentation clinique de la maladie et, d'autre part, fait surgir de nouvelles interrogations, en particulier le risque d'émergence de souches virales résistantes aux antiviraux.

La prévention de l'infection à CMV peut reposer sur une prophylaxie, une prévention ciblée ou l'association des deux.

La prophylaxie consiste à administrer un traitement ou toute autre modalité préventive à l'ensemble d'un groupe à risque en espérant que les patients qui auraient dû développer l'infection ne la développeront pas. Le nombre de patients traités « inutilement » est donc par définition important.

La prévention ciblée consiste au contraire à définir au préalable les patients les plus à risque et à n'appliquer le traitement qu'à cette sous-population. Les deux attitudes ont été utilisées en transplantation d'organe, sans qu'il soit possible à l'heure actuelle de définir quelle est la plus pertinente.

2.1. Prophylaxie

Elle peut reposer sur plusieurs éléments.

• La prévention de la transmission au receveur, que ce soit par l'organe transplanté ou par les produits sanguins. Cette attitude est efficace mais peu utilisée en ce qui concerne la transmission par le rein transplanté, en raison de la pénurie actuelle. En ce qui concerne la transmission par les produits sanguins (culots érythrocytaires déleucocytés), celle-ci joue un rôle mineur en transmission rénale alors que ce rôle est significatif en transplantation hépatique ou pulmonaire. Il est néanmoins recommandé d'utiliser des produits sanguins provenant de donneurs CMV négatifs chez les patients transplantés CMV négatifs.

• La modulation de l'immunosuppression : la limitation de l'utilisation des anticorps mono- et polyclonaux à la phase initiale de la transplantation diminue le risque de survenue d'une infection à CMV. Il convient donc pour chaque cas individuel de peser les avantages d'un traitement d'induction en terme de prévention du rejet d'allogreffe et les inconvénients liés à la surimmunosuppression.

• L'interféron-alpha : ce traitement, utilisant les capacités d'inhibition de la réplication virale des interférons, n'est actuellement plus utilisé en raison d'une efficacité discutée, mais surtout de la survenue de plusieurs cas d'insuffisance rénale aiguë parfois irréversible.

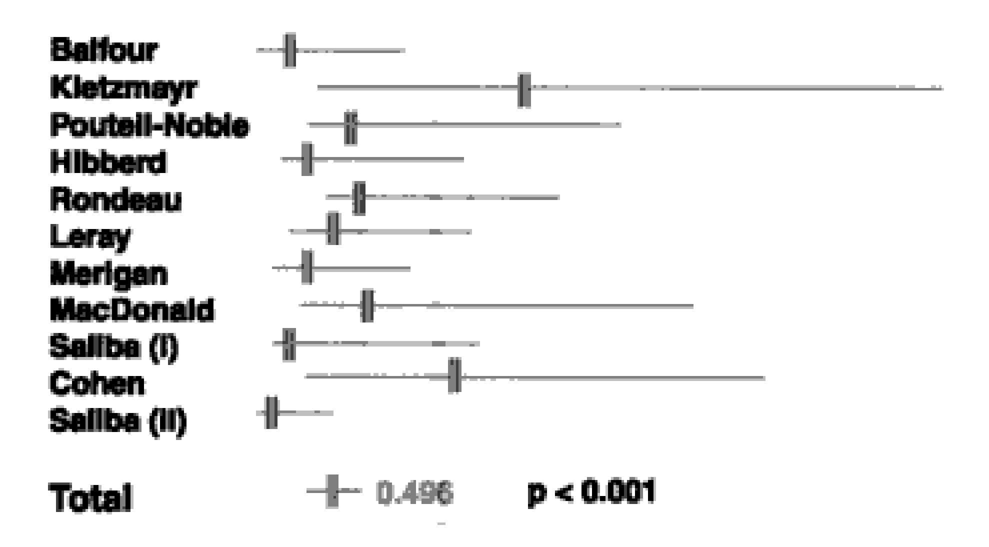


Figure 1. Méta-analyse de la chimioprophylaxie de la maladie à CMV après transplantation d'organes (d'après Couchoud et al.).

• La vaccination anti-CMV : là encore, cette technique n'est plus utilisée car elle ne modifiait l'incidence ni des infections, ni des maladies à CMV et n'entraînait qu'une diminution globale et modérée du score de sévérité des maladies à CMV.

• Les gammaglobulines standard ou spécifiques anti-CMV : seules ou associées à d'autres antiviraux, elles apportent un bénéfice inconstant en diminuant notamment la sévérité des maladies à CMV que ce soit en transplantation cardiaque ou hépatique. Ce bénéfice a été mieux documenté en transplantation rénale par une méta-analyse qui retrouve une diminution significative de l'incidence des maladies à CMV quel que soit le type de gammaglobulines utilisées (risque relatif = 0,58, intervalle de confiance à 95 % 0,42–0,77). En France, il convient cependant de noter que l'on ne dispose plus de gammaglobulines spécifiques anti-CMV.

• La chimioprophylaxie : elle repose principalement sur le ganciclovir utilisé par voie IV ou per os, le valaciclovir et, à un moindre degré, sur l'aciclovir à fortes doses. La chimioprophylaxie a largement supplanté les autres méthodes en raison de son excellente efficacité et de sa bonne tolérance. Globalement, la méta-analyse réalisée par Couchoud et al. indique que malgré l'hétérogénéité des études, notamment en ce qui concerne les antiviraux utilisés et leurs modalités d'utilisation, la chimioprophylaxie est efficace et diminue significativement l'incidence des infections (risque relatif = 0,74, intervalle de confiance à 95 % 0,62–0,88, p < 0,001) et des maladies à CMV (risque relatif = 0,5, intervalle de confiance à 95 % 0,40–0,62, p < 0,001) *(figure 1)*. Les études les plus récentes, méthodologiquement moins sujettes à caution, rapportent une efficacité encore supérieure. L'étude de Winston et al. en transplantation hépatique montre une diminution de l'incidence de l'infection à CMV (de 38 à 5 %) et de la maladie à CMV (de 10 à 0,8 %) très significative avec le ganciclovir IV par rapport à de fortes doses d'aciclovir. En utilisant du ganciclovir per os pendant 90 j par rapport à un placebo en transplantation hépatique, Gane et al. ont démontré également une efficacité (l'incidence de l'infection passe de 51,5 à 24,5 %,

prophylactique. Il faut remarquer qu'un faible pourcentage de patients (5 sur 80 dans notre expérience) développe, dans les semaines qui suivent l'arrêt du valaciclovir, une primo-infection retardée, ce qui justifie probablement la prolongation de la prophylaxie pendant une durée totale de 4 à 6 mois. De nouveaux médicaments apporteront probablement de nouveaux bénéfices en termes d'efficacité et de tolérance, en particulier le valganciclovir qui est actuellement en essai de phase III mais aussi, à plus longue échéance, le benzimidazole riboside, les antiprotéases, voire le léflunomide, un agent qui combine des propriétés immunosuppressives et anti-CMV.

2.2. Prévention ciblée

Elle peut s'appliquer, d'une part, aux patients à risque – elle implique alors la prédiction de ce risque et le traitement anticipé de l'infection pour éviter la maladie – et, d'autre part, à des situations à risque, comme par exemple toutes les situations d'augmentation de l'immunosuppression contemporaines du traitement d'un épisode de rejet aigu ou bien encore la prévention des récidives après un premier épisode de maladie à CMV (cf. supra).

• La prévention ciblée appliquée aux patients à risque consiste à effectuer un monitoring viral pendant les semaines suivant la transplantation puis, lorsque apparaissent des signes d'infection, à évaluer individuellement le risque de maladie, à débuter un traitement antiviral, en pratique le ganciclovir IV ou oral (traitement anticipé ou *preemptive therapy*) et, éventuellement, à moduler l'immunosuppression. Ce type de prévention est très utilisé en pratique courante même s'il est assez mal évalué dans la littérature ; en particulier, on ne connaît pas précisément l'importance relative du traitement antiviral et de la diminution de l'immunosuppression. Il n'y a à l'heure actuelle aucun consensus en ce qui concerne les sous-groupes de patients à traiter, les critères de mise en route du traitement antiviral, les doses et la durée de ce traitement, les critères d'efficacité retenus. La principale difficulté réside à l'heure actuelle dans la définition des modalités de monitoring viral direct. Les deux méthodes les plus utilisées sont la recherche de l'antigénémie pp65 et les techniques de biologie moléculaire. En ce qui concerne l'antigénémie pp65, le seuil de positivité a certes une signification statistique mais non individuelle et il convient donc de s'aider de la cinétique d'évolution. En ce qui concerne les techniques de biologie moléculaire, elles sont nombreuses, ont une excellente valeur prédictive négative et permettent une détection à la fois plus précoce et plus sensible que l'antigénémie, une quantification de la charge virale qui pourrait autoriser une prédiction de la gravité de l'infection et constituer une aide thérapeutique. En pratique, ces techniques sont très hétérogènes et, en l'absence d'une meilleure standardisation, toute comparaison entre elles est à interpréter avec circonspection. Une meilleure définition des modalités de prévention ciblée passe donc d'abord par une phase de standardisation des techniques de monitoring viral.

• La prévention ciblée appliquée aux conséquences du traitement du rejet à été bien étudiée par Hibberd et al. Lorsqu'un rejet aigu est traité par un anticorps monoclonal anti-CD3, l'OKT3®, ou par des anticorps polyclonaux antilymphocyte, l'incidence de maladie à CMV passe de 21 à 59 %. Si du ganciclovir IV est administré en même temps que l'OKT3®, cette incidence est ramenée à 21 %, annihilant ainsi l'effet délétère de l'OKT3®.

La principale question actuelle est donc de déterminer quelle stratégie de prévention est la plus pertinente en terme d'efficacité, de tolérance et de coût : prophylaxie, prévention ciblée ou association des deux. Aucun consensus n'existe à l'heure actuelle dans la communauté des médecins impliqués dans la transplantation d'organe.

3. Conclusion

La prévention de l'infection à CMV en transplantation d'organe est désormais possible et efficace même si les modalités d'application sont encore imparfaitement codifiées et variables d'une équipe à une autre. Il est probable que la prophylaxie dont l'efficacité est très clairement démontrée va devenir la stratégie la plus utilisée et qu'elle deviendra de pratique aussi routinière que la prophylaxie des pneumocystoses ou des infections à *Candida*. La question de l'induction de résistances du CMV aux antiviraux n'en est donc que plus centrale.

Pour en savoir plus

Balfour HH. Options for prevention of cytomegalovirus disease. Ann Intern Med 1991 ; 114 : 598-9.

Bienvenu B, Thervet E, Bedrossian J, Scieux C, Mazeron MC, Thouvenot D, Legendre C. Development of cytomegalovirus resistance to ganciclovir after oral maintenance treatment in a renal transplant recipient. Transplantation 2000 ; 69 : 182-4.

Boeckh M, Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus : methodologic aspects and clinical application. Clin Microb Rev 1998 ; 11 : 533-54.

Collaborative DHPG Treatment Study Group. Treatment of serious cytomegalovirus infections with 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine in patients with AIDS and other immunodeficiencies. N Engl J Med 1986 ; 314 : 801-5.

Couchoud C, Cucherat M, Haugh M, Pouteil-Noble C. Cytomegalovirus prophylaxis with antiviral agents in solid organ transplantation. Transplantation 1998 ; 65 : 641-7.

Deray G, Martinez F, Katlama C, Levaltier B, Beaufils H, Danis M, et al. Foscarnet nephrotoxicity. Am J Nephrol 1989 ; 9 : 16-21.

Gane E, Saliba F, Valdecasas GJC, O'Grady J, Pescovitz MD, Lyman S, Robinson CA. Randomised trial of efficacy and safety of oral ganciclovir in the prevention of cytomegalovirus disease in liver-transplant recipients. Lancet 1997 ; 350 : 1729-33.

Glowacki LS, Smaill FM. Use of immunoglobulins to prevent cytomegalovirus infections in transplantation. A meta-analysis. Clin Transplant 1994 ; 8 : 10-8.

Hibberd PL, Tolkoff-Rubin NE, Conti D, Stuart F, Thistlethwaite JR, Neylan JF, et al. Preemptive ganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease in cytomegalovirus antibody-positive renal transplant recipients. A randomized controlled trial. Ann Intern Med 1995 ; 123 : 18-26.

Humar A, Uknis M, Carlone-Jambor C, Gruessner RW, Dunn DL, Matas A. Cytomegalovirus disease recurrence after ganciclovir treatment in kidney and kidney-pancreas transplant recipients. Transplantation 1999 ; 76 : 94-7.

Kramer P, Bijnen AB, ten Kate FWJ, Jeekel J, Weimar W. Recombinant leukocyte interferon A induces steroid-resistant acute vascular rejection episodes in renal transplant recipients. Lancet 1984 ; i : 989-90.

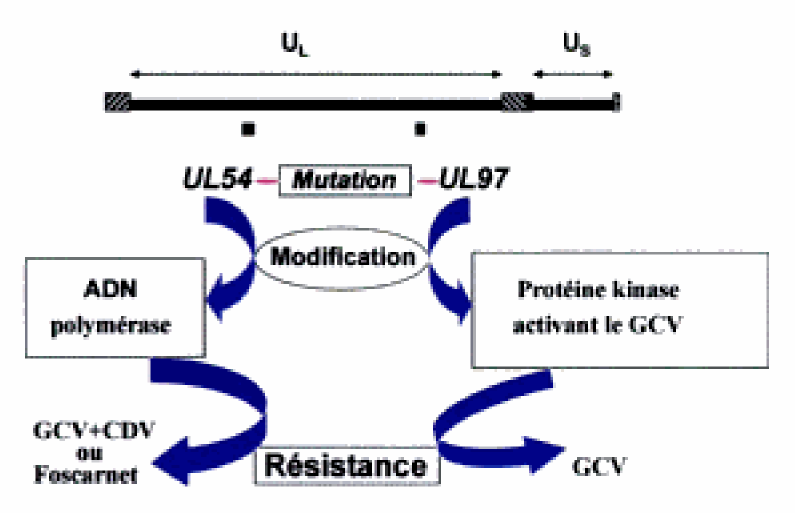


Figure 3. Mécanismes de résistance du cytomégalovirus aux antiviraux.
Les mutations de *UL54*, impliquées dans la résistance au ganciclovir induisent une résistance croisée au cidofovir. La résistance au foscarnet n'est habituellement pas croisée avec la résistance au ganciclovir ou cidofovir. CDV : cidofovir ; GCV : ganciclovir.

Tableau 1. Modifications de la protéine-kinase UL97 conférant la résistance au ganciclovir.

Rôle	Position de l'acide aminé	Modification Substitution d'acide aminé ou délétion
Démontré	460	Méthionine à isoleucine
		Méthionine à valine
	520	Histidine à glutamine
	590–593	Délétion de alanine-alanine-cystéine-arginine
	591–594	Délétion de alanine-cystéine-arginine-alanine
	594	Alanine à valine
		Alanine à glycine
	595	Délétion de leucine
		Leucine à sérine
		Leucine à phénylalanine
	603	Cystéine à tryptophane
	607	Cystéine à tyrosine
Suspecté	590	Alanine à thréonine
	591	Alanine à valine
		Alanine à acide aspartique
	592	Cystéine à glycine
	595	Leucine à tryptophane
		Leucine à thréonine
	596	Acide glutamique à glycine
		Acide glutamique à acide aspartique
	597	Asparagine à isoleucine
	598	Glycine à valine
	599	Lysine à méthionine
	603	Cystéine à tyrosine
	606	Alanine à acide aspartique
	665	Valine à isoleucine

1.2. Mutations de *UL54*

L'activité catalytique de l'ADN polymérase du CMV est portée par un polypeptide de 140 kDa qui partage huit domaines d'homologies avec les ADN polymérases des autres herpèsvirus et l'ADN polymérase humaine. Les domaines I à VI sont listés par ordre décroissant d'homologie. L'ordre linéaire de ces domaines à partir de l'extrémité N-terminale IV-δ C-A-II-VI-III-I-VII-V est conservé parmi les ADN polymérases.

Lors des traitements prolongés par le GCV, des mutations de *UL54* s'ajoutent aux mutations de *UL97* pour conférer au CMV un haut niveau de résistance au GCV *(figure 3)*. Ces mutants ont une résistance croisée au CDV. L'apparition de mutants résistants au CDV est favorisée par un traitement préalable par le GCV. La substitution de la phénylalanine en valine dans le sous-domaine IV en position 412, la substitution de la leucine en isoleucine dans le sous-domaine δC en position 501 et la substitution de l'alanine en glycine dans le domaine V en position 987 *(tableau 2)* sont responsables d'une résistance croisée au GCV et CDV. Les virus recombinants, construits à partir d'une souche sauvage de référence et

Tableau 2. Modifications de l'ADN polymérase du cytomégalovirus conférant la résistance aux antiviraux (d'après Cihlar et al. et Erice et al.).

Région	Modification	Sensibilité				
		GCV	CDV	Foscarnet	ADV	LBV
IV	**N408D**	R	R	S	S+	S
	F412C	R	R	S	S+	S
	F412V	R	R	S	S+	S
	D413E	R	R	S	NT	NT
δC	**L501I**	R	R	S	S+	S
	K513E	R	R	S	S+	S
	P522S	R	R	S	S+	S
	L545S	R	R	S	S+	S
	D588E	S	S	R	R	S
II	*T700A*	S	S	R	R	R
	V715M	S	S	R	R	R
	I722V	R	R	S	NT	NT
VI	*V781I*	S	S	R	R	S
III	L802M	R*	S	R	R	S
	K805Q	S	R	S+	S+	S+
	T821I	R	S	R	R	R
V	**A987G**	R	R	S	S	S
	Del 981-982	R	R	R	NT	NT

GCV : ganciclovir ; CDV : cidofovir ; ADV : adéfovir ; LBV : lobucavir.
R : résistance induite par la mutation ; S : sensibilité conservée ; S+ : sensibilité accrue ; NT : non testé ; del : délétion ; *la résistance au GCV n'est pas retrouvée par Cihlar et al. En gras : résistance croisée au GCV et CDV, en italique : résistance croisée au foscarnet et à l'adéfovir.

portant l'une ou l'autre de ces mutations, gardent toute capacité à phosphoryler le GCV. Ces modifications concernent des régions hautement conservées de l'ADN polymérase. D'autres mutations, responsables de la résistance croisée GCV/CDV dans des isolats cliniques, sont également situées dans les portions de gènes codant les régions IV, V et δC de l'ADN polymérase. Des modifications dans la région III sont associées à une résistance au GCV et au foscarnet, comme en position 802, décrite chez un patient traité successivement par du GCV, du foscarnet et du CDV et en position 809 chez trois patients atteints de sida, traités successivement par les trois antiviraux ou par l'association GCV et foscarnet. Des substitutions d'acides aminés dans les sous-domaines II (positions 700 et 715) et VI (position 781) sont associées à la résistance au foscarnet. La délétion des acides aminés 981-982 dans la région V est responsable d'une résistance multiple au GCV, CDV et foscarnet. Des mutations du gène *UL54* ont un effet sur la capacité de réplication du virus. Les substitutions d'acides aminés en position 700 et 715, conférant la résistance au foscarnet, induisent un ralentissement de croissance des souches virales recombinantes par rapport à la souche de référence AD169, dont elles sont issues, comme en témoignent l'allongement du délai d'apparition des foyers d'effet cytopathique et la réduction de la production virale. Des études ont montré le retentissement des mutations du gène *UL54* sur l'activité enzymatique de l'ADN polymérase. À ce jour, peu de données concernant la résistance moléculaire au lobucavir et à l'adéfovir sont disponibles. Des mutations dans la région II confèrent une résistance à l'adéfovir et une diminution de sensibilité au lobucavir. Des altérations de l'ADN polymérase dans les régions IV et δC, généralement associées à une résistance au CDV, induisent une hypersensibilité à l'adéfovir, bien que ces deux molécules antivirales appartiennent à la même classe des analogues nucléotidiques. Des mutations ponctuelles dans les régions conservées de l'ADN polymérase virale modifient la structure tertiaire de la protéine ou en altèrent la fonction et influencent directement ou indirectement la capacité de liaison de l'ADN polymérase avec le nucléotide.

2. Méthodes d'étude du phénotype de résistance

La mise en évidence de la résistance au laboratoire repose sur la mesure des concentrations de l'antiviral inhibant de 50 à 90 % (CI50 et CI90) la réplication du virus en culture. La réduction de la réplication virale en présence de concentrations croissantes de l'antiviral à tester est évaluée par de nombreuses méthodes. La réduction du nombre de plages, mesurée en 14 j, est une méthode largement utilisée. Des variantes en sont la réduction du nombre de foyers d'effet cytopathique révélés en immunocytochimie (en 6 j) ou du nombre de cellules exprimant des antigènes tardifs, révélées par immunoperoxydase indirecte ou cytométrie de flux. D'autres paramètres, comme la production d'antigènes tardifs évaluée par Elisa, ou la synthèse de l'ADN viral mesurée par hybridation à l'aide de sondes spécifiques marquées, peuvent être choisis pour le test. Quelle que soit la méthode utilisée, l'inoculum doit être standardisé. Il consiste en un stock de virus extracellulaire dont la constitution nécessite un délai minimum de 4 à 6, voire 10 semaines avant l'obtention d'un titre viral suffisant, ou en un stock de cellules infectées obtenu dans un délai de 2 à 3 semaines. Le test peut parfois

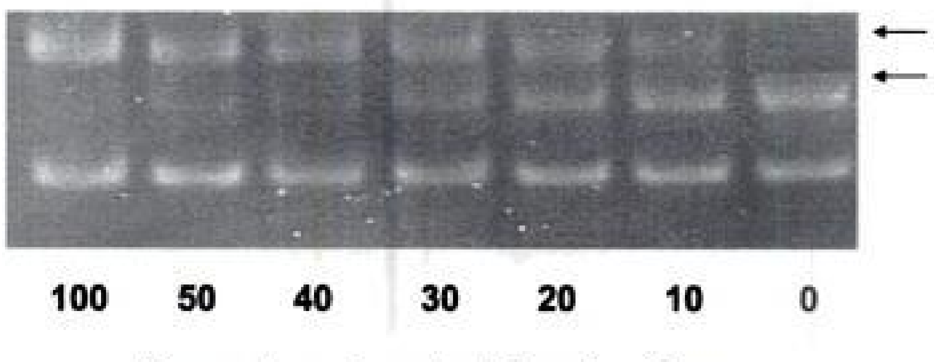


Figure 5. Méthode rapide de détection d'une mutation de *UL97*.

rapides permettent d'identifier un mutant dans un isolat mixte si l'ADN muté représente 10 % au moins de l'ADN total analysé *(figure 5)*. Elles sont applicables directement aux prélèvements pathologiques sans isolement préalable.

4. Résistance in vitro et résistance clinique

Il existe habituellement une corrélation entre le génotype et le phénotype. Cependant, dans quelques cas, la détection des mutations était accompagnée d'un phénotype sensible. Ces discordances peuvent résulter des difficultés d'interprétation du phénotype dues notamment à l'hétérogénéité de certains isolats. La résistance in vitro est associée à une évolution clinique défavorable du patient traité pour infection grave. La détection d'une mutation directement dans le prélèvement au site même de l'infection permet d'affirmer la responsabilité du mutant dans la survenue des manifestations cliniques.

La réplication in vivo des mutants résistants et leur capacité à établir la latence sont difficiles à évaluer en l'absence de modèle animal. Le pouvoir réplicatif des souches mutées est encore peu étudié. Certaines mutations de *UL54* induisent l'allongement du délai d'apparition des foyers d'effet cytopathique et la réduction de la production virale en culture cellulaire. Elles peuvent aussi réduire l'activité enzymatique de l'ADN polymérase. Bien que la protéine-kinase UL97 ne soit pas indispensable à la réplication du virus en culture cellulaire, elle intervient dans la synthèse de l'ADN viral et l'assemblage de la capside. Aussi n'est-il pas exclu que des mutations ou délétions de *UL97* puissent inhiber la réplication virale. La possibilité de résurgence de souches sensibles après l'arrêt du traitement n'a été rapportée que de façon anecdotique. La transmission des souches résistantes à un nouvel hôte n'est que peu documentée. L'identification de mutants résistants au GCV peut précéder les manifestations cliniques de la résistance, suggérant que ces souches gardent la capacité de disséminer et de provoquer des lésions sévères.

5. Prévalence des souches résistantes

Le rôle des traitements de longue durée (3 à 6 mois) dans l'émergence de la résistance a été souligné dès 1991. La charge virale à CMV élevée favorise également la survenue de la résistance comme en témoigne la résistance précoce au GCV chez des enfants ayant un déficit immunitaire complexe et une charge virale élevée. Enfin, une activité antivirale faible du traitement, comme celle d'un traitement d'entretien à posologie réduite, est un facteur d'émergence de la résistance.

Des isolats résistants au GCV ont été caractérisés, dès 1989, chez trois patients immunodéprimés dont la maladie à CMV continuait d'évoluer sous traitement. La prévalence de la résistance au GCV a été recherchée, tout particulièrement chez les patients infectés par le VIH et recevant des traitements prolongés par GCV : 7,6 % de 72 malades traités pour rétinite par le GCV depuis plus de 3 mois excrétaient une souche résistante de même que 27,5 % de 76 patients après 9 mois de traitement. Chez les receveurs d'allogreffe de moelle ou d'organe, les études de prévalence de la résistance au GCV sont plus récentes. Dans une étude européenne regroupant 68 centres d'allogreffe de moelle, deux cas de résistance au GCV ont été confirmés et 23 cas suspectés. Chez les receveurs d'allogreffe d'organe, seules quelques observations ponctuelles avaient été publiées jusqu'en 1998. En 1999, une étude a montré que 5,2 % de 348 receveurs de transplantation pulmonaire excrétaient une souche de CMV de sensibilité réduite au GCV. Les receveurs particulièrement à risque de développer une résistance sont ceux qui, séronégatifs pour le CMV avant greffe, reçoivent un organe d'un donneur séropositif et ceux qui nécessitent des traitements immunosuppresseurs longs et intenses. De fait, chez les receveurs de greffe d'organe, les souches résistantes bien caractérisées ont été isolées au cours de primo-infections à de très rares exceptions près, les receveurs de greffe pulmonaire étant les plus à risque de développer une résistance. Concernant le foscarnet, seuls des cas isolés de résistance avaient été décrits avant la mise en œuvre d'une étude prospective large, menée chez des patients atteints de sida. La résistance au foscarnet y était observée chez 26 % des patients après 6 mois de traitement et chez 37 % après 9 mois. La résistance au CDV a été évaluée dans la même étude. Des 13 patients traités par CDV, 29 % excrétaient une souche résistante après 3 mois de traitement. Dans ces études, la probabilité d'émergence sous traitement de la résistance au foscarnet ou au CDV n'apparaît pas différente de celle de la résistance au GCV.

Il a été occasionnellement rapporté l'isolement de souches résistantes au GCV et/ou au foscarnet avant tout traitement. L'utilisation d'antiviraux à titre préventif (GCV oral, GCV ou foscarnet par voie intraveineuse) a suscité la crainte de favoriser l'émergence de mutants résistants. Les premières études n'ont pas montré de modification de la réponse au traitement par le GCV intraveineux institué secondairement à une prophylaxie par voie orale au cours du sida. Les traitements anticipés, chez des receveurs d'allogreffe, sous forme de GCV administré par voie intraveineuse n'ont pas non plus favorisé l'émergence de résistants. Un traitement préventif par aciclovir a semblé favoriser l'émergence rapide de la résistance au GCV chez des receveurs d'allogreffe de moelle. Chez les receveurs de greffe de rein, la prophylaxie par valaciclovir n'a pas, à ce jour, induit de résistance au GCV.

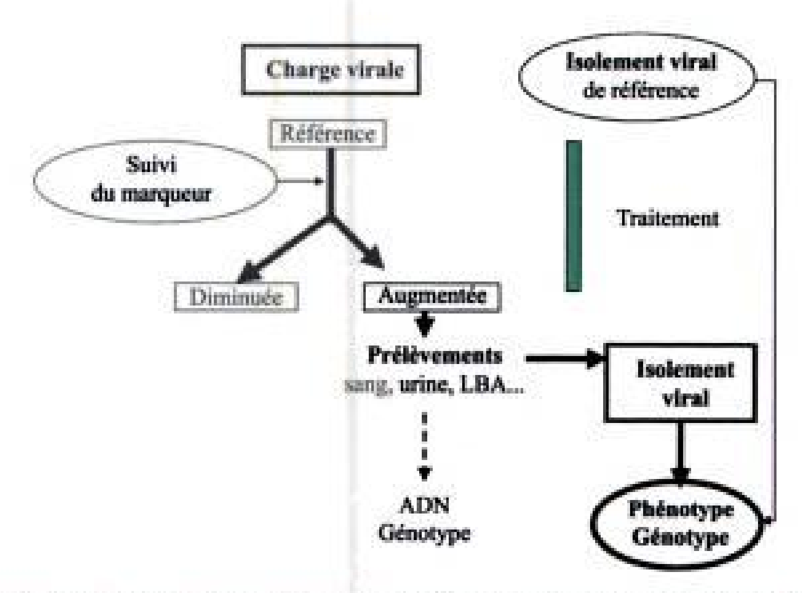


Figure 6. Suivi virologique d'un traitement d'une infection à cytomégalovirus. Il est très utile d'isoler avant traitement la souche de CMV afin de la comparer si besoin aux souches isolées sous traitement. LBA : lavage bronchoalvéolaire.

Tableau 3. Réduction de la charge virale dans le sang circulant sous traitement.

Marqueur	Délai	Réduction de la charge virale ou indétectabilité	Remarques
Virémie	7 à 10 j	Indétectable	
Antigénémie pp65	7 à 21 j	Indétectable	Sous ganciclovir, peut augmenter la première semaine
ADNémie leucocytaire	14 j	> 2 log_{10}	
ADNémie plasmatique	14 j	> 1 log_{10}	

6. Conclusion : conduite à tenir

L'émergence de la résistance du CMV aux antiviraux reste un risque majeur chez les patients immunodéprimés qui reçoivent des cures prolongées et répétées d'antiviraux. Une surveillance virologique du traitement s'impose donc. Elle inclut des prélèvements (sang, urines ou autres en fonction de la symptomatologie) pour isolement avant la mise sous traitement, le suivi du marqueur de l'infection active choisi et des prélèvements pour isolement en cas d'augmentation de la charge virale sous traitement *(figure 6 et tableau 3)*. En raison des délais de réponse des tests phénotypiques, la recherche des mutations est utile *(figure 7)*.

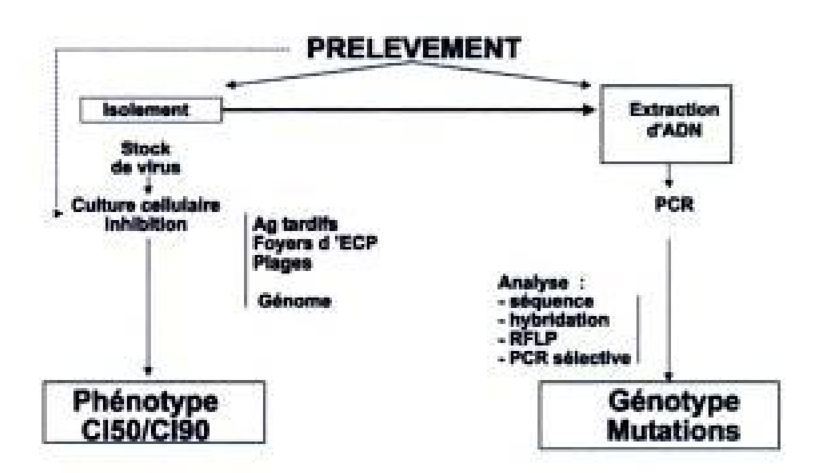


Figure 7. Étude de la sensibilité du cytomégalovirus aux antiviraux à partir du prélèvement.

Elle a l'intérêt, en outre, de mettre en évidence des mutants minoritaires et donc de permettre un changement précoce de thérapeutique. Les études des mécanismes moléculaires de résistance montrent le risque de survenue de résistance croisée, notamment au GCV et CDV. Le choix thérapeutique doit théoriquement tenir compte de ce risque, mais il est limité par le nombre restreint de molécules disponibles.

Pour en savoir plus

Alain S, Honderlick P, Grenet D, Stern M, Vadam C, Sanson Le Pors, Mazeron MC. Failure of ganciclovir treatment associated with the selection of a ganciclovir-resistant cytomegalovirus strain in a lung transplant recipient. Transplantation 1997 ; 63 : 1533-6.

Baldanti F, Underwood MK, Stanat SC, Biron KK, Chou S, Sarasini A, et al. Single amino acid changes in the DNA polymerase confer foscarnet resistance and slow-growth phenotype, while mutations in the UL97-encoded phosphotransferase confer ganciclovir resistance in three double-resistant human cytomegalovirus strains recovered from patients with AIDS. J Virol 1996 ; 70 : 1390-5.

Boivin G, Erice A, Crane DD, Dunn DL, Balfour HH. Ganciclovir susceptibilities of cytomegalovirus (CMV) isolates from solid organ transplant recipients with CMV viremia after antiviral prophylaxis. J Infect Dis 1993 ; 168 : 332-5.

Boivin G, Gilbert C, Morissette M, Handfield J, Goyette N, Bergeron MG. A case of ganciclovir-resistant cytomegalovirus (CMV) retinitis in a patient with AIDS : longitudinal molecular analysis of the CMV viral load and viral mutations in blood compartments. AIDS 1997 ; 11 : 867-73.

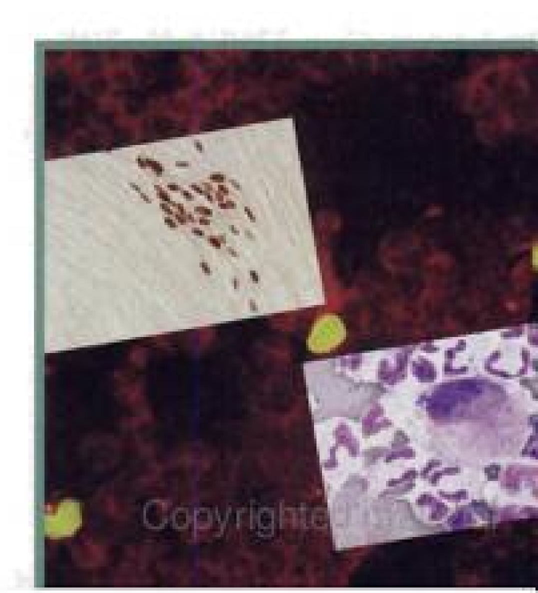
Bourgeois C, Sixt N, Bour JB, Pothier P. Value of a ligase chain reaction assay for detection of ganciclovir resistance-related mutation 594 in UL97 gene of human cytomegalovirus. J Virol Methods 1997, 67 : 167-75.

Chou S, Guentzel S, Michels KR, Miner RC, Drew L. Frequency of UL97 phosphotransferase mutations related to ganciclovir resistance in clinical cytomegalovirus isolates. J Infect Dis 1995 ; 172 : 239-42.

Chou S, Erice A, Jordan MC, Vercellotti GM, Michels KR, Talarico CL, et al. Analysis of the UL97 phosphotransferase coding sequence in clinical cytomegalovirus isolates and identification of mutations conferring ganciclovir resistance. J Infect Dis 1995 ; 171 : 576-83.

Prévention de l'infection à cytomégalovirus La vaccination

Anne-Marie Fillet



Le cytomégalovirus (CMV) est un agent pathogène majeur chez les receveurs d'allogreffe d'organes solides et de moelle osseuse et il infecte 1 % environ des nouveau-nés. L'infection est plus sévère en cas de primo-infection chez le sujet transplanté, les receveurs séronégatifs recevant un greffon de donneur séropositif pour le CMV étant particulièrement à risque de maladie grave à CMV. Bien qu'une immunisation antérieure à la grossesse ne protège pas totalement de la transmission in utero, celle-ci réduit significativement le taux d'infection congénitale (moins de 5 % chez les femmes préimmunisées versus 20 % chez les femmes qui développent une primo-infection) ainsi que la sévérité de l'infection et le risque de séquelles graves. C'est pourquoi l'immunisation, avant la transplantation et/ou la conception, par un vaccin efficace pourrait réduire significativement la mortalité et la morbidité associées à l'infection à CMV.

1. Stratégies vaccinales

Différentes stratégies vaccinales ont été développées. Elles reposent sur la préparation de vaccins vivants atténués, de vaccins sous-unitaires et de vecteurs vaccinaux dont les principales caractéristiques d'immunogénicité et d'efficacité en modèle animal et chez l'homme sont résumées dans le *tableau 1*. La région la plus immunogène étant conservée parmi les différentes souches de CMV, un seul et même vaccin pourrait théoriquement protéger efficacement de l'infection par toute souche.

Une des difficultés réside dans l'évaluation de l'efficacité du vaccin en raison du coût des essais vaccinaux de phase III, en particulier des essais pour démontrer la prévention de l'infection congénitale à CMV. Ceci justifie qu'on recherche des preuves préalables d'efficacité des différents vaccins. Ces preuves pourraient être apportées par des essais en modèle animal d'infection congénitale mais aussi par de petits essais cliniques chez l'homme de phase II. Le cobaye infecté par le CMV du cobaye constitue le modèle animal d'infection congénitale à CMV car la gestation relativement longue (environ 67 j) peut être divisée en périodes analogues aux trimestres de la grossesse chez la femme et la structure du placenta est similaire à celle du placenta humain. Chez l'homme, Plotkin propose que les premiers signes d'efficacité soient la prévention de l'infection chez les mères dont les enfants ont été infectés par le CMV en crèche. En cas d'efficacité démontrée de cette première étape, on rechercherait la réduction de l'infection fœtale dans une étude contrôlée de femmes vaccinées avant la grossesse.

2. Vaccins vivants atténués

La souche Towne, isolée d'un enfant atteint d'une maladie des inclusions cytomégaliques, a été atténuée par de multiples passages en culture cellulaire. Des réactions locales sont observées une semaine après l'injection du vaccin ; elles sont dues à une réaction d'hypersensibilité retardée vis-à-vis de l'antigène inactivé injecté avec le vaccin vivant. Cette souche vaccinale induit une infection limitée, qui n'est pas suivie de latence, que ce soit chez l'immunodéprimé ou l'immunocompétent. Cependant, le risque d'installation de la latence et donc de réactivation n'est pas définitivement exclu.

L'immunité induite par ce vaccin est insuffisante pour protéger efficacement *(tableau 1)*. Pour augmenter l'immunogénicité tout en conservant l'innocuité, des virus hybrides ont été construits par recombinaison de la souche Towne avec la souche sauvage Toledo dans le but de réduire une délétion présente dans le génome de la souche Towne. Les virus hybrides devront être évalués pour déterminer si l'innocuité de la souche Towne est maintenue et si l'efficacité et l'immunogénicité sont accrues.

3. Vaccins sous-unitaires

L'identification des antigènes du CMV qui induisent les réponses immunitaires humorales et cellulaires les plus fortes est indispensable à l'élaboration de vaccins efficaces. Ainsi, les donneurs sains séropositifs pour le CMV ont une réponse cellulaire cytotoxique essentiellement vis-à-vis de la phosphoprotéine 65 (ppUL 83) et de la protéine IE1 (92 % et 76 % respectivement), dans une moindre mesure vis-à-vis de la glycoprotéine B et de la phosphoprotéine 150 (33 % et 30 % des donneurs respectivement). Les glycoprotéines de l'enveloppe du CMV (B et éventuellement H) portent des épitopes entraînant la synthèse d'anticorps neutralisants.

Actuellement, la glycoprotéine B (UL55) apparaît comme la candidate la plus efficace pour la préparation de vaccins sous-unitaires car elle est la cible de la moitié des anticorps neutralisants présents dans le sérum des sujets infectés naturellement. La gB produite par génie génétique, associée à l'adjuvant MF59, est administrée à la dose optimale de 5 à 30 mg avec des injections jusqu'à 6 mois. Une autre application de la sous-unité gB combinée à l'adjuvant MF59 serait de produire des immunoglobulines chez des sujets séropositifs pour le CMV.

4. Vaccin recombinant canarypox

Cette stratégie consiste à faire exprimer la protéine d'intérêt par un virus, le canarypox, utilisé comme vecteur. Le génome de ces poxvirus aviaires peut accepter de grandes quantités d'ADN étranger. Aucune particule virale n'est produite dans les cellules de mammifères et d'espèces non aviaires infectées par le canarypox ou ses recombinants. De plus, le canarypox n'est responsable de maladie ni chez les sujets sains, ni chez les sujets immunodéprimés. Enfin, les recombinants canarypox sont caractérisés par leur capacité à induire une réponse immunitaire cytotoxique.

À ce jour, ont été construits des canarypox recombinants qui contiennent le gène de la glycoprotéine d'enveloppe gB ou le gène codant la phosphoprotéine 65. Les perspectives sont de construire un canarypox recombinant contenant plusieurs gènes dans le but de stimuler à la fois l'immunité humorale et cellulaire anti-CMV et d'obtenir une réponse en anticorps neutralisants vis-à-vis de la gB, et une réponse lymphocytaire T cytotoxique dirigée contre la phosphoprotéine 65.

Tableau 1. Immunogénicité et efficacité des différents vaccins anti-CMV.

Type de vaccin	Immunogénicité	Efficacité	
		Modèle animal	Chez l'homme
Vivant atténué : Towne	• Induit une réponse immunitaire humorale (Ac neutralisants) et cellulaire mais celle-ci est plus faible qu'après une infection naturelle		• Transplanté rénal : – ne réduit pas l'incidence de l'infection à CMV – réduit (environ 85 %) l'incidence de la maladie sévère à CMV • Volontaire sain : – protection vis-à-vis de l'inoculation d'une faible dose
Vaccin sous-unitaire glycoprotéine B	• Nécessité d'un adjuvant car faible immunogénicité • Induit une réponse mixte : – humorale (Ac neutralisants) – cellulaire (CTL) • Volontaires sains vaccinés avec la souche Towne ou infectés expérimentalement avec la souche Toledo ont produit des anticorps anti-gB neutralisants	• Infection congénitale du cobaye : étude contrôlée d'immunisation préconceptionnelle avec inoculation d'épreuve au 3[e] tiers de la grossesse • Amélioration de l'évolution de la grossesse : augmentation du nombre d'animaux nés vivants • Isolement de virus chez l'animal nouveau-né moins fréquent dans le groupe vacciné	
Vaccin recombinant canarypox : – gB	• Induit une réponse cellulaire cytotoxique • gB seule chez volontaires sains : pas ou peu de synthèse d'Ac • gB combinée à Towne : présence plus précoce et à taux plus élevé d'Ac neutralisants		
– pp65	• pp65 : Ac anti-pp65 et CTL anti-pp65		
Vaccin ADN	• Souris : – gB : induction Ac neutralisants – pp65 : réponse CTL spécifique • Cobaye : – vaccin ADN (CMV du cobaye) – réponse Ac comparable à la réponse obtenue après l'infection naturelle		

Ac : anticorps ; gB : glycoprotéine B ; pp65 : phosphoprotéine 65 ; CTL : réponse lymphocytaire T cytotoxique.

5. Vaccin ADN

Cette stratégie, aussi connue sous le nom « d'ADN nu », consiste en l'injection d'un plasmide bactérien contenant un ou plusieurs gènes insérés pour susciter une réponse immunitaire vis-à-vis des protéines correspondantes.

Ainsi, plusieurs études ont montré l'immunogénicité, en particulier de la pp65 et de la gB, chez des animaux infectés *(tableau 1)*.

6. Conclusion

La recherche vaccinale vis-à-vis du CMV connaît un développement important car l'immunisation avant la conception pourrait réduire la fréquence et la gravité des infections congénitales à CMV, infections pour lesquelles il n'y a actuellement pas de traitement. De multiples stratégies sont simultanément testées. Très récemment, il a été montré que les corps denses, qui contiennent les principales protéines immunogènes du CMV, stimulent l'immunité humorale et cellulaire en l'absence d'expression des gènes viraux. Ils pourraient donc servir de base au développement d'un vaccin recombinant non réplicatif.

Pour en savoir plus

Adler SP, Plotkin SA, Gonczol E, Cadoz M, Meric C, Wang JB, et al. A canarypox vector expressing cytomegalovirus (CMV) glycoprotein B primes for antibody responses to a live attenuated CMV vaccine (Towne). J Infect Dis 1999 ; 180 : 843-6.

Barjot P, Jacquemont F, Vabret A, Freymuth F, Guillois B. Diagnostic prénatal de l'infection materno-fœtale à cytomégalovirus : mise au point et conduite à tenir. Réf Gynécol Obstét 2000 ; 7 : 147-62.

Bourne N, Schleiss MR, Bravo FJ, Bernstein DI. Preconception immunization with a cytomegalovirus (CMV) glycoprotein vaccine improves pregnancy outcome in a Guinea pig model of congenital CMV infection. J Infect Dis 2001 ; 183 : 59-64.

Britt WJ. Vaccines against human cytomegalovirus : time to test. Trends Microbiol 1996 ; 1 : 34-8.

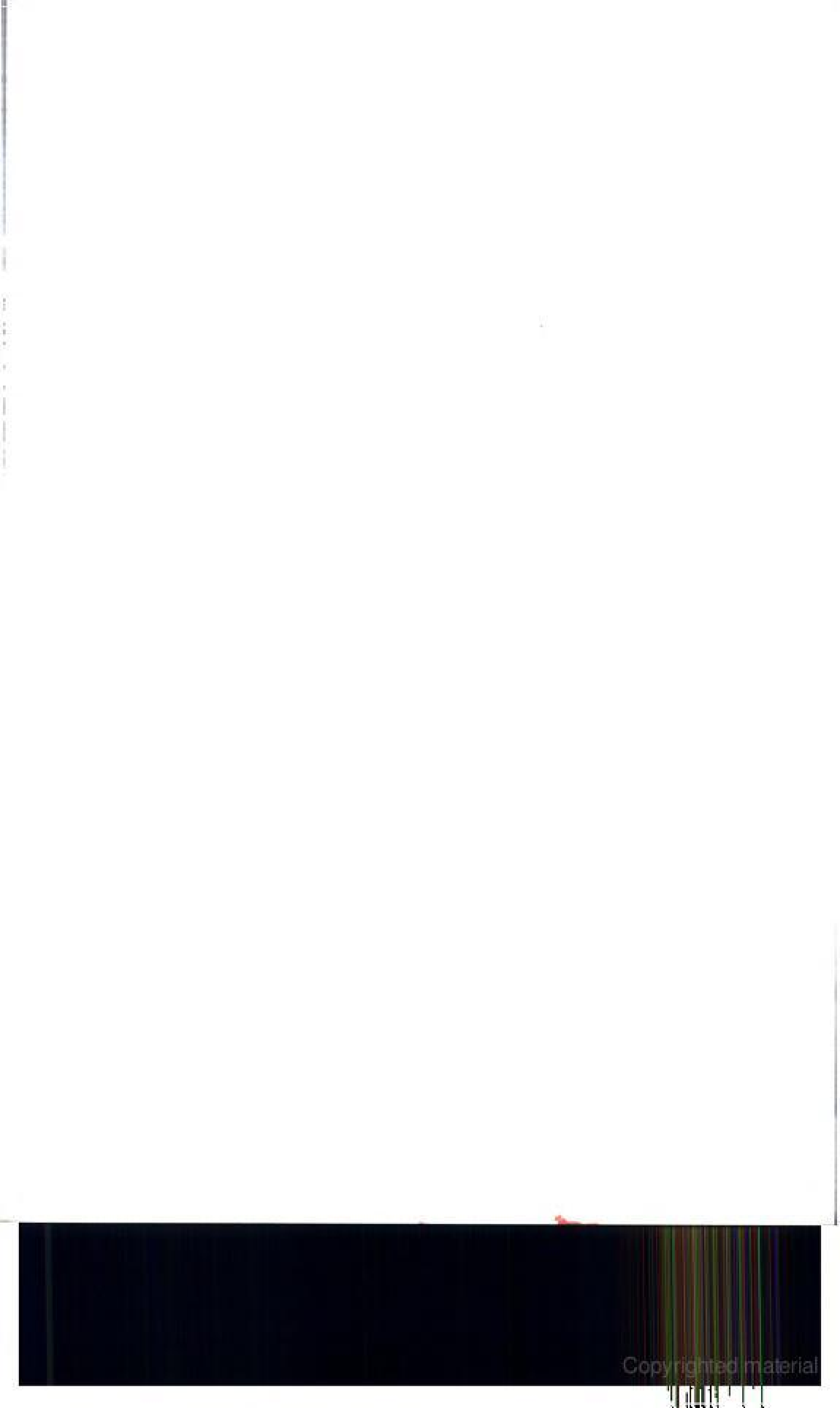
Burroughs M, Moscona A. Immunization of pediatric solid organ transplant candidates and recipients. Clin Infect Dis 2000 ; 30 : 857-69.

Drulack MW, Malinowski FJ, Fuller SA, Stewart SS, Hoskin S, Duliege AM, et al. Vaccination of seropositive subjects with CHIRON CMV gB subunit vaccine combined with MF59 adjuvant for production of CMV immune globulin. Virol Immunol 2000 ; 13 : 49-56.

Enders AC. A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemohorial placenta. Am J Anat 1965 ; 116 : 2968.

Endresz V, Kari L, Berencsi K, Kari C, Gyulai Z, Jerrey C, et al. Induction of human cytomegalovirus (HCMV)-glycoprotein B (gB) specific neutralizing antibody and phosphoprotein 65 (pp65)-specific cytotoxic T lymphocyte responses by naked DNA immunization. Vaccine 1999 ; 17 : 50-8.

Fowler KB, Stagno S, Pass RF, Britt WJ, Boll TJ, Alford CA. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. N Engl J Med 1992 ; 326 : 663-7.



Cytomégalovirus

Coordinateur

Marie-Christine Mazeron

Collection dirigée par

Jean-Claude Nicolas

Le cytomégalovirus joue un rôle majeur en pathologie humaine du fait de la fréquence des infections qu'il induit et de leur sévérité potentielle chez les sujets immunodéprimés et les fœtus et nouveau-nés infectés in utero. Le diagnostic de ces infections a bénéficié ces dernières années des progrès accomplis dans la connaissance du virus et dans la mise au point de méthodes de détection quantitatives de grande sensibilité. Le traitement des atteintes sévères, dont l'efficacité dépend largement de la précocité de son administration, reste difficile, incitant à la mise au point de stratégies de prévention, en particulier chez les receveurs d'allogreffe de moelle ou d'organe.

Cet ouvrage, après la présentation du virus (classification, structure, réplication in vitro), traite successivement les différents aspects cliniques de l'infection en fonction de l'hôte en soulignant les modifications profondes de l'épidémiologie observées ces dernières années. Un chapitre est consacré à l'important problème de la transmission mère–enfant de l'infection. Le chapitre physiopathologie aborde les relations complexes du virus avec son hôte. Les différentes méthodes diagnostiques sont décrites avec leurs avantages et inconvénients tandis que la démarche diagnostique à entreprendre est traitée en fonction du contexte clinique. Les caractéristiques virologiques, galéniques et pharmacocinétiques des molécules antivirales actives sur le cytomégalovirus sont décrites. Sont ensuite abordées les modalités des traitements curatifs et préventifs en fonction de l'hôte, la résistance aux antiviraux et les difficultés de mise au point d'un vaccin.

Les auteurs

Sophie Alain
Ronald Colimon
Jean-Luc Davignon
Agnès Devergie
Alexandra Ducancelle
Anne-Marie Fillet
Laurence Gérard
Berthe-Marie Imbert
Christophe Legendre
Marie-Christine Mazeron
Marie-Caroline Meyohas
Noël Milpied
Sophie Minjolle
Sylvie Rogez
Flore Rozenberg
Dominique Salmon-Céron
Michel Segondy

ISBN : 2-84299-267-9
ISSN : 1631-3623
37 €
CMV

